

TESIS DE DOCTORADO

ESTUDIO DE LOS SISTEMAS DE ALIMENTACIÓN EN EXPLOTACIONES DE VACUNO DE GALICIA: EFECTO DE LA COMPOSICIÓN DE LA DIETA SOBRE EL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS Y ANTIOXIDANTES LIPOSOLUBLES DE LA LECHE

Adrián Botana Fernández

ESCUELA DE DOCTORADO INTERNACIONAL

PROGRAMA DE DOCTORADO EN INGENIERÍA PARA EL DESARROLLO RURAL Y CIVIL

LUGO

2019





DECLARACIÓN DEL AUTOR DE LA TESIS

"Estudio de los sistemas de alimentación en explotaciones de vacuno de Galicia: Efecto de la composición de la dieta sobre el perfil de ácidos grasos y antioxidantes liposolubles de la leche"

D./Dña. Adrián Botana Fernández

Presento mi tesis, siguiendo el procedimiento adecuado al Reglamento, y declaro que:

- 1) *La tesis abarca los resultados de la elaboración de mi trabajo.*
- 2) *En su caso, en la tesis se hace referencia a las colaboraciones que tuvo este trabajo.*
- 3) *La tesis es la versión definitiva presentada para su defensa y coincide con la versión enviada en formato electrónico.*
- 4) *Confirmando que la tesis no incurre en ningún tipo de plagio de otros autores ni de trabajos presentados por mí para la obtención de otros títulos.*

En Lugo, 11 de octubre de 2019

Fdo.: Adrián Botana
Fernández





AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR / TUTOR DE LA TESIS

**Estudio de los sistemas de alimentación en explotaciones de vacuno
de Galicia: Efecto de la composición de la dieta sobre el perfil de
ácidos grasos y antioxidantes liposolubles de la leche**

D. Gonzalo Flores Calvete (director)

Dña. Elena Fernández Rodríguez (tutora)

INFORMAN:

Que la presente tesis, corresponde con el trabajo realizado por D. Adrián Botana Fernández, bajo nuestra dirección, y autorizamos su presentación, considerando que reúne los requisitos exigidos en el Reglamento de Estudios de Doctorado de la USC, y que como director/tutora de ésta no incurre en las causas de abstención establecidas en Ley 40/2015.

En Lugo, 11 de octubre de 2019

Fdo.: Gonzalo Flores Calvete

Fdo.: Elena Fernández Rodríguez



La presente tesis de doctorado ha sido realizada en el Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (AGACAL-CIAM), dependiente de la Agencia Gallega de Calidad Alimentaria (AGACAL) de la Xunta de Galicia, gracias a la concesión de un contrato predoctoral de Formación de Personal Investigador en Agroalimentación en los Centros de Investigación Agraria y Alimentaria INIA-CCAA (FPI-INIA), financiado por el Instituto Nacional de Investigación Agraria y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA); y se enmarcó dentro de los siguientes proyectos de investigación:

- RTA2014-00086-C03-03 titulado “Hacia un sistema de autenticación del origen de la leche de vacuno: estudio de la relación entre el sistema de alimentación y la presencia de biomarcadores en la grasa de la leche potencialmente útiles como trazadores de su procedencia en dietas típicas de Galicia y la Cornisa Cantábrica.”, financiado por el Instituto Nacional de Investigación Agraria y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA).
- FEADER-2016-59-B titulado “Proxecto Leite Plus. Valorización do leite producido en explotacións ecolóxicas e convencionais de Galicia”, en una acción de investigación cooperativa LIGAL-CIAM, financiado por la Xunta de Galicia, cofinanciadas con el Fondo Europeo Agrícola de Desarrollo Rural (Feader).



AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, me gustaría dar las gracias, por toda la colaboración y amabilidad mostrada, a los propietarios de las explotaciones de vacuno de leche que formaron parte del estudio llevado a cabo durante esta tesis, sin la cual sería imposible haber llevado a cabo este trabajo.

A lo largo de estos años, son muchas las personas que he conocido y con las que he trabajado, y que de una manera u otra han contribuido a la realización de esta tesis. A todas ellas me gustaría darles las gracias, especialmente a todos los trabajadores de campo del CIAM por su colaboración e inestimable ayuda en la realización de los ensayos de campo. De igual forma a los técnicos de laboratorio, por toda su ayuda en la realización de los distintos análisis y al resto de personal del CIAM, siempre dispuestos a resolver cualquier tipo de duda. También agradecer la colaboración prestada por el LAFIGA, y muy particularmente al LIGAL.

Gracias a mi director de tesis, el Dr. Gonzalo Flores Calvete, sin él nada de esto sería posible. Gracias por toda la confianza depositada en mí desde el principio, por todo el apoyo, el esfuerzo y por todas las horas que ha dedicado en el desarrollo y realización de esta tesis. También, por transmitirme la motivación y superación necesarias para desarrollar este trabajo.

Quisiera también expresar también mi agradecimiento al Dr. César Resch Zafra, por haberme transmitido su experiencia y sus conocimientos en el campo de la producción de leche y por sus valiosos consejos y ayuda para el desarrollo de esta tesis.

Agradecer de una forma muy especial a Sonia Pereira, Laura González y Marcos Veiga por prestarme su apoyo y colaboración siempre que lo he necesitado, su entusiasmo, energía y risas, sobre todo risas... En definitiva, gracias por su amistad. Gracias también a todos los demás amigos y compañeros por los buenos momentos que hemos pasado y por ayudarme siempre que lo he necesitado.

Deseo también expresar un especial agradecimiento a los tutores que me han acogido durante mis estancias internacionales por su amabilidad, apoyo y enseñanzas. Al Dr. James Humphreys, del Moorepark Teagasc Food Research Centre (Fermoy, Irlanda), a la Dra. Agnes van den Pol-van Dasselaar, de la Aeres University of Applied Sciences (Dronten, Holanda) y a Gaïd Peton, del IDELE (Rennes, Francia).

Por supuesto, gracias a mis padres, a mi familia y a mis amigos, por animarme y apoyarme siempre.

Y por último, y en este caso más importante, gracias a Pili, gracias por estar siempre ahí.



RESUMEN

La producción de leche de vaca en Galicia es una actividad estratégica, no sólo por su valor económico agregado, sino por la contribución que realiza a la ocupación en el medio rural, la vertebración del territorio y el mantenimiento del paisaje. En las últimas décadas la evolución del sector se ha dirigido hacia la adopción de modelos productivos más intensivos, con vacas estabuladas alimentadas con raciones completas a base de ensilajes y niveles medio-altos de concentrados, en parte como respuesta a las dificultades de acceso al mercado de tierras para ampliar la base forrajera de la explotación.

Las demandas emergentes del consumo, que integran la preocupación por el mantenimiento del medio ambiente, el bienestar animal y la salud humana, abren la posibilidad de ocupar un nicho de mercado particular para la producción de leche en sistemas más extensivos, donde el pastoreo proporciona una parte relevante de la alimentación a lo largo del año. Esta producción, hoy en día minoritaria en Galicia, tiene como uno de sus puntos fuertes la mayor concentración en la leche de compuestos bioactivos con efectos favorables sobre la salud humana, como son determinados ácidos grasos y antioxidantes presentes en la grasa de la leche.

La información local acerca de las características de los modelos productivos y sistemas de alimentación en las granjas gallegas de vacuno es incompleta y a veces inexistente en lo que se refiere a la composición y valor nutricional de los forrajes integrantes de las raciones y de la relación entre el sistema de alimentación, la composición de la leche de tanque y su evolución a lo largo del año.

A fin de contribuir a un mejor conocimiento de los diferentes sistemas de producción de leche de Galicia, en el presente trabajo se incluyen los resultados de cuatro estudios realizados en granjas gallegas y en condiciones experimentales durante los años 2016 y 2017. Se realizó una encuesta a un grupo de 50 explotaciones lecheras consideradas representativas de los distintos modelos de producción de leche, incluyendo una muestra de explotaciones de pastoreo, ecológicas y convencionales y de explotaciones que alimentaban a las vacas estabuladas permanentemente con raciones completas a base de ensilajes de hierba y de maíz y diferentes niveles de concentrado, obteniendo información acerca de su estructura productiva, ocupación de la base territorial, cultivos forrajeros, instalaciones y perspectivas de futuro. Posteriormente, la mitad de estas explotaciones fue

visitada una vez al trimestre, durante un año, con el objetivo de obtener información detallada acerca del sistema de alimentación, del valor nutricional de los forrajes y de la producción y composición de la leche, analizando el perfil de ácidos grasos y de antioxidantes liposolubles. Para contrastar la información obtenida en las granjas, se plantearon dos experimentos en condiciones de alimentación controladas donde, en el primero de ellos, se comparó el efecto del consumo de hierba en pastoreo durante la primavera con la alimentación de las vacas con dietas completas a base de ensilajes de hierba y de maíz y niveles crecientes de concentrado, sobre la productividad de las vacas y la composición del perfil graso de la leche y antioxidantes liposolubles. Por último, con el mismo objetivo, en un segundo ensayo realizado con vacas estabuladas, se comparó el efecto de la substitución parcial del ensilaje de hierba por el ensilaje de maíz en dietas completas de base forrajera con un nivel medio de concentrado.

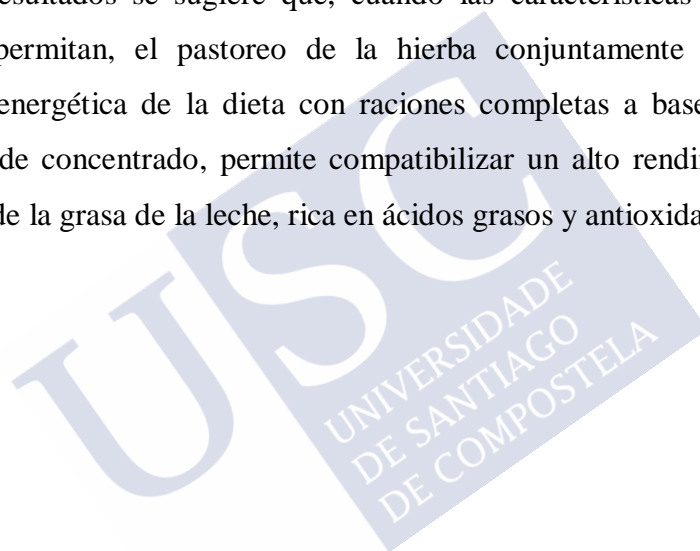
Los resultados obtenidos confirman la existencia de un gradiente de intensificación productiva, relativo a una mayor uso del ensilaje de maíz, con dos modelos productivos coexistiendo en las granjas gallegas, difiriendo en el tamaño de la explotación y del rebaño, en el uso del suelo y en el sistema de alimentación: por un lado el modelo de pequeñas granjas, basado en el consumo de pastos frescos y ensilados, con vacas menos productivas y más longevas, menores cargas y uso de concentrado reducido, que coexiste con un modelo más intensivo basado en cultivos forrajeros, uso de concentrado medio-alto, alta carga y vacas de alta producción menos longevas, siendo éste el responsable de la mayor parte de la producción de leche de Galicia. Ambos modelos comparten la característica común de carecer de suficiente superficie forrajera y el deseo de las personas titulares de la explotación de aumentar la base territorial, apuntando a un modelo menos intensivo, más basado en la tierra para asegurar la sostenibilidad de las explotaciones.

El análisis de las dietas de las granjas y de las muestra de leche de tanque demostró que la concentración de ácidos grasos y antioxidantes liposolubles bioactivos en la leche es marcadamente superior en las granjas orgánicas, comparadas con las de pastoreo convencional, en los sistemas de pastoreo comparados con la alimentación con raciones completas y, dentro de éstas, es mejor en las que integran ensilajes de hierba comparadas con las basadas en ensilaje de maíz. Las diferencias relativas entre sistemas se mantienen a lo largo de las estaciones del año. Se verificó la utilidad de la composición de ácidos grasos y de antioxidantes de la leche para la discriminación, con un alto grado de

probabilidad, entre muestras de leche que proceden o no de dietas donde las vacas consumieron pastos frescos.

Los resultados experimentales permitieron corroborar las observaciones obtenidas en el estudio realizado en las granjas, mostrando inequívocamente una mejora de la composición del perfil de ácidos grasos y de antioxidantes liposolubles de la leche ligada a la presencia de pastos frescos y en menor medida, al uso de ensilajes de hierba en la alimentación de las vacas. Se confirmó que un alto nivel de almidón en la dieta mejora la productividad animal y la producción de leche, mientras que una mayor proporción de pastos mejora la calidad de la grasa de la leche.

En base a los resultados se sugiere que, cuando las características estructurales de la explotación lo permitan, el pastoreo de la hierba conjuntamente con una adecuada suplementación energética de la dieta con raciones completas a base de ensilajes y un moderado nivel de concentrado, permite compatibilizar un alto rendimiento lechero con una alta calidad de la grasa de la leche, rica en ácidos grasos y antioxidantes saludables.





RESUMO

A produción de leite de vaca en Galicia é unha actividade estratéxica, non só polo seu valor económico engadido, senón pola contribución que realiza á ocupación do medio rural, a vertebración do territorio e o mantemento da paisaxe. Nas últimas décadas a evolución do sector dirixiuse cara á adopción de modelos produtivos máis intensivos, con vacas estabuladas alimentadas con racións completas a base de ensilaxes e niveis medio-altos de concentrados, en parte como resposta ás dificultades de acceso ao mercado de terras para ampliar a base forraxeira da explotación.

As demandas emerxentes do consumo, que integran a preocupación polo mantemento do medio ambiente, o benestar animal e a saúde humana, abren a posibilidade de ocupar un nicho de mercado particular para a produción de leite en sistemas máis extensivos, onde o pastoreo proporciona unha parte relevante da alimentación ao longo do ano. Esta produción, hoxe en día minoritaria en Galicia, ten como un dos seus puntos fortes a maior concentración no leite de compostos bioactivos con efectos favorables sobre a saúde humana, como son determinados ácidos graxos e antioxidantes presentes na graxa do leite.

A información local acerca das características dos modelos produtivos e sistemas de alimentación nas granxas galegas de vacún é incompleta e ás veces inexistente no que se refire á composición e valor nutricional das forraxes integrantes das racións e da relación entre o sistema de alimentación, a composición do leite de tanque e a súa evolución ao longo do ano.

A fin de contribuír a un mellor coñecemento dos diferentes sistemas de produción de leite de Galicia, no presente traballo inclúense os resultados de catro estudos realizados en granxas galegas e en condicións experimentais durante os anos 2016 e 2017. Realizouse unha enquisa a un grupo de 50 explotacións leiteiras consideradas representativas dos distintos modelos de produción de leite, incluíndo unha mostra de explotacións de pastoreo, ecolóxicas e convencionais e de explotacións que alimentaban ás vacas estabuladas permanentemente con racións completas a base de ensilaxes de herba e de millo e diferentes niveis de concentrado, obtendo información acerca da súa estrutura produtiva, ocupación da base territorial, cultivos forraxeiros, instalacións e perspectivas de futuro. Posteriormente, a metade destas explotacións foi visitada unha vez ao trimestre, durante un ano, co obxectivo de obter información detallada do sistema de alimentación,

do valor nutricional das forraxes e da produción e composición do leite, analizando o perfil de ácidos graxos e de antioxidantes liposolubles. Para contrastar a información obtida nas granxas, desenvolvéronse dous experimentos en condicións de alimentación controladas onde, no primeiro deles, comparouse o efecto do consumo de herba en pastoreo durante a primavera coa alimentación das vacas con dietas completas a base de ensilaxes de herba e de millo e niveis crecentes de concentrado, sobre a produtividade das vacas e a composición do perfil graxo do leite e antioxidantes liposolubles. Por último, co mesmo obxectivo, nun segundo ensaio realizado con vacas estabuladas, comparouse o efecto da substitución parcial da ensilaxe de herba pola ensilaxe de millo en dietas completas de base forraxeira cun nivel medio de concentrado.

Os resultados obtidos confirman a existencia dun gradiente de intensificación produtiva, relativo a un maior uso da ensilaxe de millo, con dous modelos produtivos coexistindo nas granxas galegas, diferindo no tamaño da explotación e do rabaño, no uso do chan e no sistema de alimentación: por unha banda o modelo de pequenas granxas, baseado no consumo de pastos frescos e ensilados, con vacas menos produtivas e máis lonxevas, menores cargas e uso de concentrado reducido, que coexiste cun modelo máis intensivo baseado en cultivos forraxeiros, uso de concentrado medio-alto, alta carga e vacas de alta produción menos lonxevas, sendo este o responsable da maior parte da produción de leite de Galicia. Ámbolos modelos comparten a característica común de carecer de suficiente superficie forraxeira e o desexo das persoas titulares da explotación de aumentar a base territorial, apuntando a un modelo menos intensivo, baseado máis na terra para asegurar a sustentabilidade das explotacións.

A análise das dietas das granxas e da mostra de leite de tanque demostrou que a concentración de ácidos graxos e antioxidantes liposolubles bioactivos no leite é marcadamente superior nas granxas orgánicas, comparadas coas de pastoreo convencional, nos sistemas de pastoreo comparados coa alimentación con racións completas e, dentro destas, é mellor nas que integran ensilaxes de herba comparadas coas baseadas en ensilaxe de millo. As diferenzas relativas entre sistemas mantéñense ao longo das estacións do ano. Verificouse a utilidade da composición de ácidos graxos e de antioxidantes do leite para a discriminación, cun alto grao de probabilidade, entre mostras de leite que proceden ou non de dietas onde as vacas consumiron pastos frescos.

Os resultados experimentais permitiron corroborar as observacións obtidas no estudo realizado nas granxas, mostrando inequivocamente unha mellora da composición do perfil de ácidos graxos e de antioxidantes liposolubles do leite ligada á presenza de pastos frescos e en menor medida, ao uso de ensilaxes de herba na alimentación das vacas. Confirmouse que un alto nivel de amidón na dieta mellora a produtividade animal e a produción de leite, mentres que unha maior proporción de pastos mellora a calidade da graxa do leite.

En base aos resultados suxírese que, cando as características estruturais da explotación o permitan, o pastoreo da herba conxuntamente cunha adecuada suplementación enerxética da dieta con racións completas a base de ensilaxes e un moderado nivel de concentrado, permite compatibilizar un alto rendemento leiteiro cunha alta calidade da graxa do leite, rica en ácidos graxos e antioxidantes saudables.





ABSTRACT

Dairy production in Galicia is a strategic activity, not only because the aggregated economic value but also because of the vital contribution that dairy farms provide to the rural occupation and social structure and landscape maintenance.

In the last decades the dairy production has evolved towards more intensive systems, with confined animals being fed total-mixed rations based in grass and maize silages and medium-high levels of concentrates, in part as a response to the growing difficulties for increasing the forage area of the farms, due to the rigidity of land market and high price of agricultural land.

The emergent consumers' demands, focused in the interest for the environment maintenance, the animal welfare and the human health, opened the possibility for the smaller less-intensive farms, to differentiate their dairy production, based in grazing, and occupy a niche in connection with actual market requirements. Grass-based dairy production has actually a minor importance in total Galician dairy production, but as it is widely recognized by scientific bibliography, one of their main advantages is the higher concentration of bioactive micronutrients, namely fatty acids and fat-soluble antioxidants, compared with all-silage, high-concentrate systems.

The local information about the characteristics of Galician dairy farms productive models is scarce, and often lacking, with regard to the diet composition and forage nutritive values, as well as about the relationships between diet, tanker milk composition and its evolution along the year.

With the aim to gain insight into the characteristics of the different dairy production systems in Galicia, in the present thesis are included the results of four studies carried out in Galician dairy farms and experimental conditions during the years 2016 and 2017. A survey was performed amongst 50 dairy farms deemed representatives of the different dairy production systems, including a sample of grazing-based farms, both organic and conventional and TMR "all silage" based farms with confined animals and variable use of concentrates, being obtained information about farm productive structure, agricultural area use, permanent pasture and forage crops and farmer's perspectives about future. Half of this farms were selected and visited quarterly along a year, with the objective of characterizing in detail the diet being fed to the lactating cows, being taken samples of forages and feed ingredients for further analysis of their nutritive value and of tanker milk

for physicochemical composition, fatty acid and soluble antioxidants profile. In order to contrast the results obtained in farms' visits, two experiments were set out in controlled feeding conditions. In the first of them the effect of pastures grazing during the spring was compared with the feeding of stalled cows with TMR, silage-based diets of variable concentrate proportions, on cows' productivity and milk fatty acids and fat-soluble antioxidants. In the second experiment, with the same objective, the effect of varying the proportion between grass and maize silages in TMR diets with a fixed level of concentrate was studied.

The results obtained confirmed the existence of an intensification gradient related to a higher use of maize silage in the cows' diets, with two productive models coexisting in Galician dairy farms, differing in farm and herd size, forage area use and feeding systems: the smaller farms model, based on fresh and silage grass with less productive cows and low concentrate use, and the more intensive farms model, based on forage crops, medium-high concentrate use and high-yielding cows, being the latter the responsible of the higher proportion of Galician dairy production. Both models share the common characteristic of the lack of enough forage land and the wish of farms' owners to increase the farm acreage, pointing out to a possible less-intensive, more land-based model of dairy production in order to assure the sustainability of dairy farms.

The analysis of diets and tanker milk composition of farms showed that the concentration of bioactive fatty acids and antioxidants in milk samples is markedly improved in the organic system compared with conventional grazing, in the grazing systems compared with the TMR feeding system, and with TMR including grass silage systems compared with "all maize" TMR feeding systems. The relative differences amongst systems are maintained across the seasons in the whole year. It was verified the utility of the fatty acids and antioxidants profile of milk to discriminate, with a high probability, about the presence or not of fresh pastures in cows' diets.

Experimental results permitted to corroborate the observations obtained in the farm's study, showing unequivocally an improvement on the milk fatty acid and fat-soluble antioxidants composition linked to the presence of fresh pastures, and in a lesser way, to the use of grass silage in the cow's diet. It was confirmed that a higher starch level in the diet improves the animal productivity, whilst a higher proportion of fresh grass improves the milk fat quality. Based on the observed results it is suggested that, when the structure

of farm allows cow`s grazing, combining fresh pasture feeding with an adequate energy supplementation of the diet with silage-based TMR and a moderate level of concentrate supplementation will permit to make compatible a good cow`s milk yield with a high quality of milk fat, rich in healthy fatty acids and antioxidants.





ABREVIATURAS UTILIZADAS

AG: ácidos grasos

AGt: ácidos grasos totales

ALA: AG alfa-linolénico

ALM: almidón

ANOVA: análisis de la varianza

BHT: butilhidroxitolueno

BCFA: ácidos grasos de cadena ramificada

CC: condición corporal

CIAM: Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo

CLA: ácido linoleico conjugado

CLAx_x y CLAx_x1: isómeros de ácido linoleico conjugado desconocidos

CNET: carbohidratos no estructurales totales

CSA: carbohidratos solubles en agua

CSOM: células somáticas

d.m.s: diferencia mínima significativa

DDGS: granos secos de destilería

DHA: ácido docosahexaenoico

DMO: digestibilidad de la materia orgánica

DOMD: materia orgánica digestible por unidad de materia seca

EB: energía bruta

EH: ensilaje de hierba

EH-EM: ensilajes hierba y maíz

EM: ensilaje de maíz

ENLm: energía neta leche a nivel de mantenimiento

EPA: ácido eicosapentaenoico

ESM: extracto seco magro

FA16: ácidos grasos de 16 Carbonos

FAD: fibra ácido detergente

FAME: ésteres metílicos de los ácidos grasos

FID: detector de ionización de llama

FM: fase móvil

FND: fibra neutro detergente

FPD: punto crioscópico

gl: grados de libertad

h_H: ratio hipo-hipercolesterolémico

ha: hectárea

IA: índice aterogénico

IMS: ingestión de materia seca

IMSc: ingestión de materia seca consumida en el comedero

IMSp: ingestión de pasto de materia seca

IMST: ingesta total diaria de materia seca

IMSt: ingestión total de MS

IT: índice trombogénico

kg: Kilogramos

L: litro

LA: ácido linoleico

LACT: lactosa

LCFA: ácidos grasos de cadena larga

LDL: (del inglés low-density lipoprotein) o lipoproteínas de baja densidad

LIGAL: Laboratorio Interprofesional Galego de Análise do Leite

m: metro

Mcal: megacaloría ($\times 10^6$ calorías)

MCFA: ácidos grasos de cadena media

MG: materia grasa

ml: mililitros

MO: materia orgánica

MOD: materia orgánica digestible

MP: materia proteica

MS: materia seca

MUFA: ácidos grasos monoinsaturados

MUFA: AG monoinsaturados

N: nitrógeno

NIRS: espectroscopia de infrarrojo cercano

N-NH₃: nitrógeno amoniacal

NRC: National Research Council (EEUU)

Nsol: nitrógeno soluble

PAC: Política Agraria Común

PB: proteína bruta

PC: pastoreo convencional

PE: pastoreo ecológico

PIB: producto interior bruto

PL: Producción de leche

PL4MG: producción de leche estandarizado al 4% de materia grasa

PUFA: ácidos grasos poliinsaturados

PV: peso vivo

TMR: raciones completas mezclada

s.e.m.: error estándar de la media

SAU: superficie agraria útil

SCFA: ácidos grasos de cadena corta

SFA: ácidos grasos saturados

std.: desviación estándar de la media

TVA: ácido vaccénico

UFL: unidades forrajeras leche

UGM: unidades de ganado mayor

UTA: unidades de trabajo-año

µg: microgramos

ÍNDICE GENERAL

1	INTRODUCCIÓN GENERAL	1
1.1	Contexto del sector lácteo gallego	1
1.2	Modelo productivo del sector lácteo gallego	2
1.3	Alimentación de las vacas lecheras de Galicia	4
1.4	Modificación del perfil graso de la leche a través de la alimentación	7
1.5	Composición lipídica de la leche y efectos en la salud humana	8
1.6	Necesidades en vitaminas de los rumiantes	10
1.7	Carotenoides y Tocoferoles: antioxidantes naturales presentes en los pastos y forrajes	12
1.8	Composición en antioxidantes liposolubles en la leche y efectos en la salud humana	14
1.9	Información acerca de la presencia de antioxidantes en los pastos y en la leche en las granjas lecheras gallegas	16
1.10	Nuevas tendencias en el sector	17
2	OBJETIVOS	21
3	CAPÍTULO I.- ANÁLISIS DE LA ESTRUCTURA, SISTEMAS DE ALIMENTACIÓN Y PERSPECTIVAS DE FUTURO EN UN PANEL DE EXPLOTACIONES LECHERAS GALLEGAS CON DIFERENTE GRADO DE INTENSIFICACIÓN	23
3.1	INTRODUCCIÓN	23
3.2	MATERIAL Y MÉTODOS	24
3.2.1	Grupos de explotaciones y tamaño de la muestra	24
3.2.2	Cuestionario y entrevistas	24
3.2.3	Estimación de la composición de la dieta	25
3.2.4	Cálculo de la producción de forrajes	25
3.2.5	Definiciones	26
3.2.6	Análisis estadístico	26

3.3	RESULTADOS	27
3.3.1	Composición de la ración de las vacas de leche	27
3.3.2	Rebaño y producción de leche	28
3.3.3	Mano de obra y productividad	30
3.3.4	Base territorial de la explotación	31
3.3.5	Superficies de pastos y cultivos forrajeros	33
3.3.6	Usos de la superficie de pastos	35
3.3.7	Disponibilidad de materia seca forrajera en la explotación	36
3.3.8	Conservación de forrajes	38
3.3.8.1	Ensilado de hierba y de maíz	38
3.3.8.2	Uso de aditivos en el ensilado	39
3.3.8.3	Tipos de silos en las explotaciones	40
3.3.9	Instalaciones	41
3.3.9.1	Gestión de las deyecciones animales	41
3.3.9.2	Estabulación y sala de ordeño	42
3.3.10	Titularidad de la explotación	43
3.3.10.1	Personalidad jurídica	43
3.3.10.2	Edad y formación de la persona titular	44
3.3.10.3	Opinión acerca de la desaparición de la cuota láctea y cambios previstos en la explotación	44
3.3.10.4	Continuidad en las explotaciones	46
3.3.10.5	Destino probable de las tierras en caso de abandonar la actividad agraria	46
3.4	DISCUSIÓN	48
3.4.1	Evolución de la estructura productiva de las explotaciones gallegas	48
3.4.2	Comparación de valores medios de las características estructurales básicas de las explotaciones lecheras de Galicia, España y la UE-15	50

3.4.3	Explotaciones de pastoreo y explotaciones que alimentan con raciones completas mezcladas en carro: comparación de resultados con la encuesta del año 2014	52
3.4.4	Importancia cuantitativa de los distintos tipos de dieta	53
3.4.4.1	Proporción de explotaciones en cada tipo de dieta	53
3.4.4.2	Comparación de datos de estructura por tipología de dieta en las encuestas de 2014 y 2017	54
3.5	CONCLUSIONES	58
4	CAPÍTULO II.- INFLUENCIA DE LOS SISTEMAS DE ALIMENTACIÓN CARACTERÍSTICOS DE LAS EXPLOTACIONES DE VACUNO LECHERO DE GALICIA SOBRE LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS Y ANTIOXIDANTES LIPOSOLUBLES DE LA LECHE	61
4.1	INTRODUCCIÓN	61
4.2	MATERIAL Y MÉTODOS	62
4.2.1	Grupos de explotaciones y tamaño de la muestra	62
4.2.2	Visitas a las explotaciones lecheras	62
4.2.3	Toma de muestras en las explotaciones lecheras	63
4.2.4	Métodos de análisis de los alimentos	64
4.2.5	Análisis fisicoquímico de la leche	65
4.2.6	Análisis de ácidos grasos de la leche	65
4.2.7	Análisis de antioxidantes liposolubles de la leche	67
4.2.8	Cálculos realizados	68
4.2.8.1	Energía neta leche de los forrajes	68
4.2.8.2	Energía neta de los concentrados	69
4.2.8.3	Estimación de la ingestión de pasto	69
4.2.8.4	Índices de calidad de los lípidos	70
4.2.8.5	Análisis estadístico de los resultados	70
4.3	RESULTADOS	72

4.3.1	Climatología de la zona en el período de estudio	72
4.3.2	Índices técnicos de las explotaciones	73
4.3.3	La composición de la dieta en los grupos de explotaciones	73
4.3.4	Composición nutricional de los alimentos	77
4.3.4.1	Hierba fresca	77
4.3.4.2	Ensilajes de hierba	79
4.3.4.3	Ensilajes de maíz	81
4.3.4.4	Forrajes secos	82
4.3.4.5	Concentrados	82
4.3.4.6	Mezclas completas	83
4.3.5	Contenido en ácidos grasos de la hierba fresca	84
4.3.6	Contenido en ácidos grasos de los ensilajes de hierba y de maíz	87
4.3.6.1	Ensilajes de hierba	87
4.3.6.2	Ensilajes de maíz	88
4.3.7	Efecto del sistema de alimentación en la composición de la leche	89
4.3.7.1	Composición fisicoquímica	89
4.3.7.2	Perfil de ácidos grasos de la leche e índices de calidad de los lípidos	92
4.3.7.3	Contenido de la leche en antioxidantes liposolubles	98
4.3.8	Evaluación de la capacidad de determinar la presencia de pastos frescos y de su proporción en la dieta de las vacas a partir de la composición de ácidos grasos y antioxidantes liposolubles de la leche	101
4.3.8.1	Análisis discriminante para clasificar las muestras de leche como procedentes o no de dietas con pastos frescos	102
4.3.8.1	Estimación del porcentaje de pasto fresco en la dieta	103
4.4.	DISCUSIÓN	104
4.4.1	Producción de leche y eficiencia	104
4.4.2	Calidad de los forrajes	106

4.4.3	Leche de pastoreo en sistemas ecológico y convencional	108
4.4.4	Leche producida en sistemas de pastoreo vs. sistemas de raciones completas con ensilajes	111
4.4.5	Transferencia de alfa-linolénico de la dieta a la leche en explotaciones de pastoreo ecológico y convencional	115
4.4.6	Marcadores de la procedencia alimentaria de la leche	117
4.5	CONCLUSIONES	119
5	CAPÍTULO III.- EFECTO DEL PASTOREO Y DEL CONSUMO DE DIETAS COMPLETAS CON NIVELES VARIABLES DE CONCENTRADO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE LECHE Y SU PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS Y DE ANTIOXIDANTES LIPOSOLUBLES	121
5.1	INTRODUCCIÓN	121
5.2	MATERIAL Y MÉTODOS	122
5.2.1	Diseño experimental	122
5.2.2	Localización, siembra y fertilización de las praderas dedicadas a pastoreo	122
5.2.3	Localización, siembra y cosecha del ensilaje de hierba	123
5.2.4	Localización, siembra y cosecha del ensilaje de maíz	124
5.2.5	Selección y manejo de las vacas	125
5.2.6	Alimentación de las vacas	126
5.2.7	Toma de muestras y medidas de hierba en pastoreo	127
5.2.8	Toma de muestras de ingredientes de mezclas TMR en el establo	128
5.2.9	Toma de muestras de la leche producida durante el ensayo	128
5.2.10	Medida de la ingestión voluntaria de MS en comedero y la producción de leche de las vacas	129
5.2.11	Peso y condición corporal de las vacas	129
5.2.12	Análisis fisicoquímico de los alimentos	129
5.2.13	Análisis fisicoquímico de la leche	130
5.2.14	Análisis de ácidos grasos de los alimentos	130
5.2.15	Análisis de ácidos grasos de la leche	131

5.2.16	Análisis de antioxidantes de los alimentos y la leche	132
5.2.17	Cálculos realizados	133
5.2.18	Análisis estadístico de los resultados	133
5.3	RESULTADOS	135
5.3.1	Climatología y rendimiento de los cultivos ensilados para el experimento	135
5.3.2	Crecimiento del pasto	135
5.3.3	Valor nutricional de los alimentos utilizados en el experimento	138
5.3.3.1	Los pastos	138
5.3.3.2	Los forrajes conservados	139
5.3.3.3	Concentrado	140
5.3.3.4	Raciones completas	141
5.3.4	Perfil de ácidos grasos de los alimentos	142
5.3.4.1	Los pastos	142
5.3.4.2	Ensilajes de hierba y de maíz	144
5.3.5	Contenidos en vitaminas y carotenoides de los alimentos	146
5.3.5.1	Los pastos	146
5.3.5.2	Ensilajes, henos y concentrados	147
5.3.6	Resultados productivos del ensayo de alimentación con vacas de leche	148
5.3.7	Perfil de ácidos grasos de la leche	152
5.3.8	Concentración de antioxidantes liposolubles en la leche	157
5.4	DISCUSIÓN	161
5.4.1	Composición en alfa-tocoferol y beta-caroteno de pastos y forrajes	161
5.4.2	Nivel de pastos y composición de ácidos grasos de la leche	161
5.4.3	Variación del contenido en ácidos grasos de la leche	164

5.4.4	Recuperación de α -tocoferol y β -caroteno en leche	165
5.4.5	Relación inversa entre parámetros productivos y perfil funcional de la grasa de la leche	166
5.4.6	Sistemas de pastoreo vs. sistemas basados en TMR	167
5.5	CONCLUSIONES	169
6	CAPÍTULO IV.- EFECTO DE LA PROPORCIÓN VARIABLE DE ENSILAJES DE HIERBA Y DE MAÍZ EN DIETAS DE VACAS DE LECHE SOBRE LA PRODUCTIVIDAD ANIMAL Y LA COMPOSICIÓN DE LA LECHE	171
6.1	INTRODUCCIÓN	171
6.2	MATERIAL Y MÉTODOS	171
6.2.1	Diseño experimental	171
6.2.2	Localización, siembra y cosecha del ensilaje de maíz	172
6.2.3	Localización, siembra y cosecha del ensilaje de hierba	173
6.2.4	Selección y manejo de las vacas	174
6.2.5	Alimentación de las vacas	175
6.2.6	Toma de muestras de la alimentación de las vacas	176
6.2.7	Toma de muestras de la leche producida durante el ensayo	176
6.2.8	Medida de la ingesta de alimento y la producción de leche	176
6.2.9	Peso y condición corporal de las vacas	177
6.2.10	Análisis fisicoquímico de los alimentos	177
6.2.11	Análisis fisicoquímico de la leche	177
6.2.12	Análisis de ácidos grasos de los alimentos	178
6.2.13	Análisis de ácidos grasos de la leche	178
6.2.14	Análisis de antioxidantes de los alimentos y la leche	178
6.2.15	Cálculos realizados	179
6.2.16	Análisis estadístico de los resultados	178

6.3	RESULTADOS	180
6.3.1	Condiciones climáticas durante el ensayo	180
6.3.2	Composición nutricional de los alimentos	180
6.3.3	Contenido en ácidos grasos de los alimentos	183
6.3.4	Contenido en antioxidantes liposolubles de los alimentos	184
6.3.5	Efecto de la proporción de ensilaje sobre la producción, composición fisicoquímica e ingestión voluntaria	184
6.3.6	Efecto de la proporción de ensilaje sobre el perfil de ácidos grasos de la leche	188
6.3.7	Efecto de la proporción de ensilaje sobre la concentración de antioxidantes liposolubles en la leche	192
6.3.8	Efecto del período sobre la producción, composición fisicoquímica e ingestión voluntaria	194
6.3.9	Efecto del período sobre el perfil de ácidos grasos de la leche	195
6.3.10	Efecto del período sobre la concentración de antioxidantes liposolubles en la leche	198
6.4	DISCUSIÓN	199
6.6	CONCLUSIONES	203
7	CONCLUSIONES GENERALES	204
8	BIBLIOGRAFÍA	207

ÍNDICE GENERAL DE TABLAS

1. INTRODUCCIÓN

1.1	Requerimientos de vitaminas para rumiantes	11
1.2	Influencia del estado de madurez en la concentración de β -caroteno y de α -tocoferol en gramíneas y leguminosas pratenses	13
1.3	Contenido en β -caroteno y α -tocoferol de forrajes frescos y conservados	14
1.4	Concentración de carotenoides y vitaminas A y E en vacas con diferentes dietas de forraje y la misma aportación de concentrado	15
1.5	Concentración de antioxidantes en la leche de granjas de leche ecológicas y granjas convencionales extensivas e intensivas	16

3. CAPÍTULO I

3.1	Composición estimada de la dieta media anual consumida por las vacas en lactación, en kg MS/vaca y día	27
3.2	Composición estimada de la dieta media anual consumida por las vacas en lactación, en porcentaje de cada ingrediente por vaca y día	28
3.3	Rebaño y producción de leche	29
3.4	Frisonización del rebaño en las explotaciones	30
3.5	Mano de obra y productividad	31
3.6	Superficie de la explotación	32
3.7	Aumento de la base territorial en los últimos 10 años	33
3.8	Tenencia de la tierra	33
3.9	Ocupación de la SAU: pastos y cultivos forrajeros	34
3.10	Rotaciones de cultivos más frecuentes	34
3.11	Especies sembradas habitualmente en las praderas	35
3.12	Uso de la superficie de pastos	36
3.13	Disponibilidad de materia seca forrajera	37
3.14	Forraje conservado: frecuencia del ensilado de hierba y de maíz	38

3.15	Número y volumen de silos de hierba y de maíz	39
3.16	Uso de aditivos en el ensilado de hierba y de maíz	40
3.17	Tipos de silos de hierba en las explotaciones	40
3.18	Tipos de silos de maíz en las explotaciones	41
3.19	Gestión de las deyecciones animales	42
3.20	Tipo de establo, sala de ordeño y tanque de frío de la leche	43
3.21	Forma jurídica de titularidad de la explotación	43
3.22	Edad y formación de la persona titular de la explotación	44
3.23	Opinión acerca del efecto de la desaparición de la cuota láctea	45
3.24	Cambios a introducir en la explotación para afrontar el futuro	45
3.25	Continuidad en la actividad de producción de leche de vacuno y existencia de sucesor	46
3.26	Destino probable de las tierras en las explotaciones que tienen previsto cesar su actividad en la agricultura	47
3.27	Evolución en la estructura de las explotaciones lecheras gallegas en base a los resultados de las sucesivas encuestas	49
3.28	Comparación de datos básicos de estructura productiva para las explotaciones lecheras de Galicia, España, UE-28 y UE-15	51

4. CAPÍTULO II

4.1	Índices técnicos de las explotaciones	73
4.2	Caracterización de la dieta media de los distintos grupos de explotaciones	75
4.3	Variación estacional de la dieta consumida por grupo de explotaciones	76
4.4	Composición de la hierba fresca de explotaciones ecológicas	78
4.5	Composición de la hierba fresca de explotaciones de pastoreo convencional	78
4.6	Composición de los ensilajes de hierba en las explotaciones	80
4.7	Composición de los ensilajes de maíz en las explotaciones	81
4.8	Composición de los henos de hierba y pajas de las explotaciones	82

4.9	Composición de los concentrados utilizados en las explotaciones	83
4.10	Composición de las mezclas completas utilizadas en las explotaciones	84
4.11	Variación estacional de la composición de ácidos grasos de los pastos de explotaciones ecológicas	85
4.12	Variación estacional de la composición de ácidos grasos de los pastos en explotaciones que realizan pastoreo en un sistema convencional	86
4.13	Composición de ácidos grasos de los ensilajes de hierba	88
4.14	Composición de ácidos grasos de los ensilajes de maíz	89
4.15	Composición fisicoquímica de la leche	90
4.16	Variación estacional de la composición fisicoquímica de la leche	91
4.17	Principales agrupaciones de AG de la leche e índices de calidad de los lípidos	93
4.18	Perfil de AG individuales de la leche	96
4.19	Variación estacional del perfil de AG de las muestras de leche	97
4.20	Composición de la leche en vitaminas A y E y carotenoides (µg/L)	99
4.21	Variación estacional del perfil de vitaminas A, E y principales carotenoides de las muestras de leche	101
4.22	Resultado del proceso de validación cruzada de la aplicación de las ecuaciones lineares discriminantes	103
4.23	Valor nutricional de forrajes de explotaciones lecheras ecológicas y convencionales en el estudio de Pereira-Crespo <i>et al.</i> (2014)	107
4.24	Proporción de ingredientes en la dieta y concentración de ALA	116
4.25	Recuperación aparente de ALA en las explotaciones de pastoreo ecológico y convencional	116

5. CAPÍTULO III

5.1	Composición estimada de la dieta en los diferentes tratamientos (% MS total)	126
5.2	Precipitación acumulada y temperaturas medias mensuales en los años 2016 y 2017 en la estación de la finca experimental de Mabegondo	135
5.3	Pasto en oferta y altura de la hierba en la parcela de pastoreo	136
5.4	Composición nutricional del pasto (valores medios de las 12 semanas del ensayo)	139

5.5	Composición químico-bromatológica de los ensilajes de hierba, maíz y henos utilizados en el experimento	140
5.6	Composición nutricional del concentrado	141
5.7	Composición de la ración TMR utilizada en el experimento de 2017	142
5.8	Perfil de ácidos grasos del pasto: Valores medios del experimento	143
5.9	Evolución del perfil de ácidos grasos del pasto durante la primavera	144
5.10	Perfil de ácidos grasos de los ensilajes de hierba y de maíz	145
5.11	Contenido en vitamina E y carotenoides del pasto durante la primavera	146
5.12	Contenido en vitamina E y carotenoides de los ensilajes de hierba y maíz, henos y concentrados	148
5.13	Producción y composición fisicoquímica de la leche	149
5.14	Ingestión de materia seca, eficiencia, peso vivo y condición corporal de las vacas	150
5.15	Valores medios por período: Producción y composición fisicoquímica de la leche e ingestión de materia seca	151
5.16	Efecto del tratamiento sobre los principales grupos de ácidos grasos de la leche, índices de calidad de los lípidos y recuperación aparente de alfa-linolénico	153
5.17	Valores medios por período: Principales grupos de ácidos grasos de la leche, índices de calidad de los lípidos y recuperación aparente de α -linolénico	154
5.18	Efecto del tratamiento sobre la composición de ácidos grasos de la leche	156
5.19	Efecto del tratamiento sobre la concentración de vitaminas A, E y carotenoides de la leche y sobre la recuperación aparente de α -tocoferol y de β -caroteno	158
5.20	Aporte diario de α -tocoferol y de β -Caroteno en la dieta de los distintos grupos (valores por kg de materia seca)	159
5.21	Valores medios por período: Concentración de vitaminas A, E y carotenoides	160
5.22	Resumen de los valores típicos para leche procedente de diferentes dietas en el estudio de Paccard et al. (2006)	162
 6. CAPÍTULO IV		
6.1	Composición porcentual de las dietas de los diferentes tratamientos (% MS total)	175

6.2	Composición del concentrado utilizado en el ensayo	175
6.3	Precipitación acumulada y temperaturas medias mensuales durante el año 2016 en la estación de la finca experimental de Mabegondo	180
6.4	Composición nutricional media de los ensilajes y el heno utilizados en el experimento	181
6.5	Composición químico-bromatológica del concentrado	182
6.6	Composición nutricional media de las mezclas unifeed utilizadas en el experimento, por tratamiento	182
6.7	Composición de AG de los ensilajes de hierba y de maíz	183
6.8	Valores medios de vitamina E, xantofilas y carotenos de los alimentos	184
6.9	Efecto del porcentaje de ensilajes de hierba y de maíz sobre la producción y composición fisicoquímica de la leche	187
6.10	Efecto del porcentaje de ensilajes de hierba y de maíz en la ración sobre el perfil de AG de la leche	190
6.11	Valores medios del perfil de ácidos grasos de la leche por tratamiento	191
6.12	Efecto del porcentaje de ensilajes de hierba y de maíz en la ración sobre la concentración de vitaminas A, E y carotenoides en la leche	193
6.13	Efecto del período de ensayo sobre la producción y composición fisicoquímica de la leche	194
6.14	Efecto del período de ensayo sobre el perfil de los principales AG de la leche	196
6.15	Valores medios del perfil de AG de la leche por período	197
6.16	Efecto del período de ensayo sobre la concentración de vitaminas A, E y carotenoides en la leche	198



ÍNDICE GENERAL DE FIGURAS

3. CAPÍTULO I

- | | | |
|-----|--|----|
| 3.1 | Comparación de las proporciones (en %MS) de ingredientes en las dietas típicas de la encuesta de 2014 y de los grupos de las explotaciones entrevistadas en 2017 | 53 |
| 3.2 | Porcentaje de las explotaciones de cada tipo de dieta, sobre el total de explotaciones de la encuesta de 2014 | 54 |

5. CAPÍTULO III

- | | | |
|-----|--|-----|
| 5.1 | Relación entre pasto en oferta y altura de la hierba durante el pastoreo | 137 |
|-----|--|-----|





1. INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1.Contexto del sector lácteo gallego

Según la Organización Interprofesional Láctea (INLAC, 2016), la cadena de producción y transformación del sector lácteo genera en España más de 11.820 millones de euros al año y da empleo a cerca de 80.000 personas, además de favorecer una importante actividad económica inducida en diversos sectores, dados los fuertes encadenamientos con otras ramas que registran tanto las explotaciones como las industrias. Hay que añadir la especial relevancia de estas actividades en las zonas rurales, en especial, en la adquisición de diversos bienes y prestación de servicios, lo cual las convierte en uno de los pilares del sostenimiento económico y demográfico de estas comarcas (Vázquez, 2013).

La producción de leche de vaca es una actividad estratégica en Galicia, tanto por el valor económico generado, directa e indirectamente, como por su contribución a la ocupación en el rural y a la vertebración del territorio. En el año 2018, la producción superó los 2.7 millones de toneladas, representando el 38% del total de la producción española, que alcanzó los 7.1 millones de toneladas (FEGA, 2019). Esta cifra sitúa a Galicia como la mayor región productora de España y entre las 10 primeras de la Unión Europea (Eurostat, 2019). A finales del año 2018 existían en Galicia 7.549 explotaciones con entregas de leche, lo que supone el 55% de las explotaciones lecheras del total del estado español (FEGA, 2019). Estas representan más del 30% de la producción final agraria gallega y, si se le suma la producción de vacuno de carne, íntimamente dependiente de la leche, esos porcentajes subirían hasta cerca del 50%. Como indican diversos autores (entre ellos Sineiro, 2015), el conjunto del sector lácteo representaría por vía directa casi el 2% del producto interior bruto (PIB) gallego y alcanzaría el 3% teniendo en cuenta la generación de valor y empleo en actividades indirectas. Del PIB directo, alrededor del 80% procede de las explotaciones y el 20% de las industrias, siendo esto un ejemplo extremo de la debilidad que caracteriza globalmente a la agroindustria en Galicia (Valdés Paços y López-Iglesias, 2008). En opinión de López-Iglesias (2015), las granjas de leche integran el denominado “núcleo duro” de explotaciones agrarias gallegas, ya que representando menos del 15% de las existentes, emplean al 25% de la mano de obra agraria y manejan cerca del 35% de la

superficie agraria útil (SAU) que, con todo, representa menos del 10% del territorio gallego.

A pesar de estas cifras, Galicia sufrió una fuerte reestructuración desde la entrada de España en la Unión Europea. La evolución seguida por las políticas llevadas a cabo dentro de la Política Agraria Común (PAC) en el período 1985-2015, pasando de un régimen muy proteccionista a una liberalización total del sector, marcada por la eliminación de las cuotas lácteas, fue una de las causas principales que hizo que el número de explotaciones bajase de 100.000 a menos de 10.000. En el citado período, a pesar de la drástica reducción del número de explotaciones, la producción de leche se duplicó, pasando de 1.2 millones de toneladas a 2.5 (Meixide *et al.*, 2016).

1.2. Modelo productivo del sector lácteo gallego

Tradicionalmente se describían dos modelos de producción de leche diferentes en España (Agroeuropa, 2013), uno de pequeña dimensión, en zonas de vocación y tradición lechera, donde apenas hay otras alternativas a esta actividad, que emplea fundamentalmente mano de obra familiar y cuya capacidad de crecimiento está limitada por la disponibilidad de tierra y un segundo más intensivo, basado en el regadío, con explotaciones de mayor dimensión que se benefician de las economías de escala y que tienen sus principales limitaciones en la gran dependencia de las materias primas procedentes del exterior, y en su mayor impacto medioambiental. El primer modelo se podía relacionar con el tipo de producción existente en Galicia y la Cornisa Cantábrica, mientras que el segundo con zonas de producción más intensivas de la España seca. Debido a un proceso de ajuste y reestructuración, motivado, entre otros factores por la PAC, la volatilidad de los mercados y los avances tecnológicos, estos modelos han evolucionado hacia un proceso de convergencia. Tras una desaparición continua y acelerada de explotaciones, concentrando la producción en un número cada vez más reducido de unidades de producción más grandes, tecnificadas e intensivas, concentradas en áreas especializadas del territorio, el modelo resultante es de alta producción-alto coste (Sineiro *et al.*, 2012).

El sistema actual era viable con unas condiciones de precios de la leche estables y una relación precio leche/precio concentrados favorable. Estos condicionantes se vieron alterados por las sucesivas reformas de la PAC desde 2003 y por la subida de los principales insumos utilizados en las explotaciones, concentrados, energía y fertilizantes. Desde el año 2007, esta situación se agravó más, con una elevada

volatilidad en los precios de la leche y los insumos necesarios para su producción, que han resultado en un deterioro del margen unitario obtenido por los productores, con crisis pronunciadas en los años 2009, 2012 y 2015/2016 (Santiso *et al.*, 2016; Sineiro *et al.*, 2016). Esto requiere de ciertos cambios en las explotaciones, ya que, si bien las perspectivas existentes sobre los precios de la leche en el plazo 2018-2030 son de un ligero incremento, debido al crecimiento de la demanda mundial, los insumos también seguirán en aumento, especialmente la energía, por lo que la volatilidad va a seguir presente (Comisión Europea, 2018).

El modelo productivo configurado en el sector lácteo gallego en las últimas décadas estuvo muy condicionado por las limitaciones estructurales de la mayoría de las explotaciones: reducida superficie, fragmentación parcelaria y dificultades para incrementar la base territorial, tanto a través de la compra como del alquiler (López-Iglesias, 2015). Ese modelo presenta problemas importantes, tanto en el plano económico como en el ambiental, como pueden ser una elevada dependencia de Galicia de las importaciones de alimentos para el ganado o el desaprovechamiento de los recursos propios, plasmados en miles de hectáreas de alto potencial agrario que están abandonadas, mientras que en las comarcas más ganaderas existe una intensificación muy elevada, lo que puede ser causa de problemas ambientales (López-Iglesias *et al.*, 2013).

Motivado por la situación descrita, con un escenario de precios de la leche desregulados y altamente volátiles, dependientes de la situación del mercado mundial, y precios de los insumos con tendencia al alza, el sector productor lácteo gallego es progresivamente consciente de la necesidad de modificar el modelo productivo, donde el aprovechamiento de la tierra para la producción de forrajes de alta calidad en la propia explotación cobra mayor protagonismo, ya que, con las prácticas de manejo adecuadas, los forrajes producidos en las explotaciones, constituyen la fuente de alimentos más barata para la producción de leche (Beauchemin y Rode, 2012). La búsqueda de un menor coste por litro de leche, el dimensionamiento de la explotación y el tipo de vacas para optimizar los resultados económicos de la explotación se convierte en un objetivo prioritario en este nuevo contexto, y no la obtención de un mayor número de litros por vaca como garantía de éxito empresarial. Esto se traduce en la introducción de sistemas más extensivos e incluso se empieza a visualizar la producción de leche ecológica como una alternativa a los sistemas convencionales (López-Iglesias, 2015).

1.3. Alimentación de las vacas lecheras de Galicia

Como se ha comentado previamente, el modelo productivo se ha intensificado, con una alimentación del ganado en la que los concentrados tienen un mayor peso, reduciendo la importancia de los forrajes producidos en las explotaciones. A pesar de esto, es difícil encontrar en la bibliografía información precisa acerca de la composición de las dietas del ganado vacuno lechero en España, quizás debido a la variabilidad de los regímenes alimentarios seguidos en las condiciones de medio de las diversas zonas productoras del estado. Esta afirmación se puede hacer extensiva al caso de las explotaciones gallegas. Si bien se encuentran publicaciones que describen con amplitud y detalle la producción de forrajes en Galicia (Piñeiro, 1994; Piñeiro y Díaz 2005), la calidad de los ensilados (Flores *et al.*, 2003a; Flores, 2004), la estructura productiva de las explotaciones lácteas (Flores *et al.*, 2003b; Fernández-Lorenzo *et al.*, 2009) o los costes de producción (Barbeyto y López-Garrido, 2012, 2013), no se encuentran trabajos que analicen en profundidad la composición de la dieta consumida por el ganado en las granjas gallegas, con la salvedad del realizado por Flores *et al.* (2017), en el que analizan los resultados de una encuesta realizada a un total de 461 explotaciones de leche de vacuno de las comunidades de Galicia (316), Asturias (55), Cantabria (43), País Vasco (24) y Navarra (23). En este trabajo se realizó una caracterización inicial de sistemas productivos de diferente grado de intensificación en la alimentación del rebaño, identificados por la realización o no del pastoreo con las vacas en producción, el uso de dietas de “todo ensilado” con animales estabulados permanentemente y la importancia relativa de los ensilados de maíz y de hierba en la alimentación como elementos más distintivos.

Tradicionalmente, la provisión de forraje de las explotaciones lecheras gallegas estaba basada en la hierba de praderas. Esta situación cambió a partir del proceso de intensificación de la producción láctea, iniciado desde finales de los años 80, debido a los problemas que se encontraron para un aumento acorde de la SAU respecto del incremento del tamaño de las explotaciones. Se produjo una mayor intensificación forrajera de la SAU disponible, centrada en un incremento del cultivo del maíz forrajero, con un incremento del predominio de los ensilados sobre el consumo de forrajes frescos y una disminución del uso de hierba de pradera, principalmente en las explotaciones de mayor dimensión.

A comienzos de los años 90 del pasado siglo, la superficie forrajera de una muestra de 300 explotaciones especializadas en la producción láctea de la provincia de A Coruña era de 12.8 ha, de las que el 90% estaban ocupadas por pradera y el resto por maíz forrajero para ensilar (Flores *et al.*, 2003a). Mientras, en una encuesta realizada en el año 1996 sobre una amplia muestra de explotaciones lecheras gallegas (1392 granjas), los resultados indicaban que en ese momento el porcentaje de la SAU ocupado por el cultivo de maíz forrajero era, de promedio, del 13%, llegando al 30% para las explotaciones con más de 196.000 kg de cuota (Flores *et al.*, 2003b). Diez años después, en un estudio realizado sobre una muestra de 477 explotaciones (Fernández-Lorenzo *et al.*, 2009), la SAU ocupada por el maíz forrajero ascendía al 23%, proporcionando un 41% del total de materia seca (MS) forrajera disponible de la explotación, cuando diez años antes representaba un 24%. En el estudio realizado en los años 2013-2014 (Flores *et al.* 2017) la superficie dedicada a maíz forrajero en las granjas gallegas suponía el 24% de la SAU.

En las explotaciones de mayor dimensión los cambios de uso del suelo fueron más marcados. Para las explotaciones de más de 300.000 kg de cuota láctea, el cultivo de maíz forrajero ocupaba de media en 1996 el 11% de la SAU y aportaba el 22% de la MS forrajera de la explotación, mientras que en 2006 estos porcentajes se elevaban al 44% de la superficie y al 63% de la MS. En el conjunto de granjas de la cornisa estudiadas entre los años 2013 y 2014, la superficie dedicada a maíz en las explotaciones con una producción entre los 325.000 y 500.000 kg suponía un 37% de la SAU y en las explotaciones con una producción mayor de 500.000 kg un 44% de la SAU.

Como respuesta a las limitaciones de base territorial, se desarrolló un modelo productivo de intensificación forrajera, basado sobre todo en el incremento de la superficie dedicada a cultivos anuales para ensilar, en el que la rotación de maíz forrajero como cultivo de verano y raigrás italiano como cultivo de invierno es predominante en las explotaciones lecheras gallegas (Fernández-Lorenzo *et al.*, 2009). Con los datos de la última encuesta disponible, esta rotación se realizaba en el 53% de las explotaciones gallegas (Flores *et al.* 2017), cifra que aumentaba al 70% en el conjunto de explotaciones de la cornisa con una producción superior a los 175.000 kg de leche. Esta rotación proporciona una alta productividad, ya a finales de los años 80, Lloveras-Vilamanya (1987) observó un incremento entre un 30% y un 60% de la producción de MS de dichas rotaciones respecto a las praderas, pero también cuenta con

alguna desventaja, ya que la utilización de esta rotación implica un único corte del cultivo de raigrás para ensilar a finales de abril-principios de mayo, en detrimento del corte en verde o dos cortes para ensilado, lo que provoca notables pérdidas de valor nutritivo del forraje (Flores *et al.*, 2013), con valores de proteína próximos o incluso inferiores a los del maíz forrajero, con lo cual, la ración de las vacas lecheras se encarece debido a la necesidad de ser complementada con una alta proporción de materias primas proteicas.

En el último estudio disponible (Flores *et al.*, 2017) la ración media ofrecida en %MS a las vacas en las 316 explotaciones gallegas estudiadas era de un 13% de hierba fresca, un 29% de ensilado de hierba, un 16% ensilado de maíz, un 11% de forrajes secos y un 31% de concentrados. Estos datos variaban en función del tamaño de la explotación, en general, las explotaciones de mayor dimensión siguen modelos más intensivos, con mayores cargas y animales más productivos, alimentados con raciones completas basadas en el ensilaje de maíz y un mayor uso de concentrados. En el extremo opuesto, en las explotaciones de menor tamaño es frecuente el aprovechamiento de la hierba a diente con vacas menos productivas, un mayor uso de ensilado de hierba y consumos de concentrado moderados. Estos modelos, sin embargo, están sujetos a variación, siendo posible encontrar explotaciones pequeñas que encuentran en la intensificación productiva la forma de superar sus limitaciones estructurales y, a la inversa, explotaciones con un número de vacas relativamente elevado cuya base territorial les permite el aprovechamiento de la hierba en pastoreo. En las explotaciones con más de 175 mil kg de leche producidos anualmente (que representan el 37% en número y el 75% en volumen de producción) la contribución de los pastos frescos a la dieta de las vacas de leche es testimonial, estando compuestas la MS de las raciones ofrecidas a los animales en el establo por un 40% de concentrados y un 60% de forrajes conservados. Una muestra de la importancia de los ensilados para la producción lechera gallega es el hecho de que, del total de forrajes empleados en el citado segmento de explotaciones, aproximadamente un 45% corresponde a ensilado de hierba y un porcentaje igual al ensilado de maíz, siendo el 10% restante forrajes secos.

La mayor relevancia del maíz forrajero y la preponderancia de la utilización de ensilados frente al uso de forrajes verdes, ya sea a diente o mediante siega, ponen de manifiesto una correlación positiva entre el tamaño de la explotación y el nivel de intensificación productiva. Diversos autores han explicado este hecho (López-Iglesias,

2002; Barbeyto, 2003) como una consecuencia de la incapacidad de las explotaciones lecheras gallegas más dinámicas de acomodar su incremento de tamaño con el correspondiente aumento de la base territorial forrajera, debido a los altos precios de la tierra y a la competencia de otros usos.

Corroborando esta opinión, López-Garrido *et al.* (2010), en un análisis comparativo sobre las perspectivas de los productores de leche europeos, afirman que las dificultades de ampliación de la base territorial de las explotaciones por las dificultades de acceso a la tierra son el principal problema que afrontan los productores europeos en general y gallegos en particular. Esta circunstancia motiva la adopción de modelos intensivos de producción que, permitiendo salvar la dificultad de base territorial en base a la compra de insumos externos y una eficiente gestión de los factores de producción, generan altas cargas ganaderas, una acusada dependencia del suministro de alimentos procedentes de fuera de la explotación y presentan graves problemas, en muchos casos, de eliminación de purines y estiércoles de las explotaciones.

1.4.Modificación del perfil graso de la leche a través de la alimentación

En términos generales, la grasa láctea se compone por el 70% de ácidos grasos saturados (SFA), 25% de ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) y 5% de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) (Dewhurst *et al.*, 2006). La composición en sólidos y el perfil de ácidos grasos (AG) de la leche dependen, entre otros factores, del genotipo de la vaca y del estado de lactación, pero sobre todo de la alimentación consumida por la vaca (Givens y Shingfield, 2006; Kalač y Samková, 2010).

Aunque los forrajes contienen relativamente pequeñas cantidades de AG (1 a 3% MS), con frecuencia son la fuente principal de lípidos en la dieta del ganado vacuno de leche (Harfoot y Hazelwood, 1988). Dhiman *et al.* (2005) indican que los pastos frescos y los ensilajes de hierba son fuentes de ácido alfa-linolénico (C18:3n3 o ALA, cabeza de la serie omega-3), representando el 46-56% de los AG totales, mientras que el ensilaje de maíz es más rico en ácido linoleico (C18:2n6 o LA, cabeza de la serie omega-6) que en ALA (aproximadamente 40 y 6%, respectivamente).

Los cambios en las prácticas de alimentación del vacuno lechero, con una mayor presencia de ensilaje de maíz y concentrados y menor consumo de forrajes frescos, motivaron cambios en la composición de la grasa de la leche hacia una mayor concentración de AG saturados, una menor concentración de AG con carácter funcional

y una ratio entre los AG omega-6 y omega-3 más elevado (Elgersma *et al.*, 2006). Cuando se utilizan dietas basadas en ensilado de maíz, su substitución por pasto permite reducir el porcentaje de ácidos grasos saturados de la leche del 72 al 64% y reducir a la mitad el ratio omega-6/omega-3 (Couvreur *et al.*, 2007). Además, el ensilado de maíz contiene una cantidad importante de almidón, alrededor del 28-33% para planta cosechada en un estado de madurez adecuado. Su presencia es reducida en las dietas del ganado vacuno con un alto consumo de forrajes frescos, con los que se incrementa la presencia en la grasa de la leche de un isómero trans del ácido oleico, el AG transvaccénico (C18:1 τ 11 o TVA), de reconocido carácter funcional (Elgersma, 2015), como se comenta más adelante.

Por otra parte, la conservación del forraje afecta a la variación de la composición de AG del forraje, siendo necesario emplear una técnica correcta que preserve en lo posible su calidad original. El proceso de secado de la hierba para hacer heno disminuye la proporción de AG totales y de omega-3 de la hierba, siendo la conservación del forraje como ensilado la más favorable, siempre que el proceso se realice correctamente (Doreau y Poncet, 2000). Se debe evitar un secado excesivo en el campo, recomendándose procesos de presecado cortos, en los que los forrajes no superen porcentajes de materia seca del 35%, a fin de que el perfil de AG insaturados del forraje fresco se mantenga en el ensilado (Arvidson *et al.*, 2009a). Por otra parte, debe procurarse favorecer una fermentación láctica rápida y eficiente, para lo cual podría ser recomendable el uso de inoculantes a base de bacterias lácticas homofermentativas. Mientras que en algunos estudios no se encuentran diferencias entre los forrajes frescos y ensilados sin presecar en cuanto a la concentración de AG poliinsaturados (Ueda *et al.*, 2002), en otros casos el proceso de ensilado redujo su concentración, siendo atribuido este hecho a los procesos oxidativos que tienen lugar durante el presecado del forraje en el campo (Dewhurst *et al.*, 2003). El genotipo de la planta, por otro lado, influye en la intensidad de la oxidación de los ácidos grasos durante el presecado (Chow *et al.*, 2004), siendo conocido, a este respecto, que las leguminosas son más eficaces en la transferencia de un perfil graso favorable del forraje a la leche, en particular cuando se consumen como ensilados (Shingfield *et al.*, 2008), comparadas con las gramíneas.

1.5.Composición lipídica de la leche y efectos en la salud humana

En la actualidad existe un aumento del interés por parte de los consumidores de información acerca de productos funcionales, que exhiban beneficios para la salud más

allá de su valor nutricional estricto. La reducción en la dieta de la proporción de ácidos grasos saturados y el aumento de ácidos grasos poliinsaturados es una estrategia recomendada por la Organización Mundial de la Salud para reducir el riesgo de accidentes cardiovasculares (WHO, 2003). Los productos lácteos contribuyen a un 15-20% de la ingestión de grasa total, un 25-33% de la grasa saturada y aproximadamente al 15% de colesterol de la dieta de los países desarrollados (Elgersma *et al.*, 2006). En la leche también están presentes AG bioactivos como los AG alfa-linolénico, vaccénico y ruménico, siempre presentes en pequeñas cantidades (<5% del total de AG), pero que ejercen un impacto biológicamente significativo en la salud humana (Bainbridge *et al.*, 2016).

A pesar de que existen evidencias científicas acerca de que el consumo de lácteos ejerce una influencia positiva a largo plazo sobre la salud humana (Elwood, 2009), también se acepta el interés de reducir el aporte de las grasas saturadas en estos productos. Consumidores y expertos marcaron la grasa láctea como no saludable, recomendando sustituir los productos lácteos enteros por los desnatados como medida nutricional generalizada (Bauman y Lock, 2015). En los últimos años, este tema fue objeto de numerosas investigaciones científicas, cuyos resultados permiten hablar de un cambio de paradigma respecto de la grasa láctea y de su papel en la dieta humana, toda vez que aunque la leche tiene un porcentaje elevado de ácidos grasos saturados, la mayoría no ejerce ningún efecto negativo; solo el mirístico (C14:0) y el palmítico (C16:0) no son recomendables en grandes cantidades, ya que aumentan los niveles de colesterol (Mensink *et al.*, 2003), siendo el mirístico el que tiene un mayor efecto hipercolesterolémico (Bradbury *et al.*, 2010). El palmítico también tiene efectos positivos, ya que es relacionado con un descenso en la sensibilidad a la insulina (Bermúdez *et al.*, 2014). Multitud de estudios asocian un menor riesgo de enfermedades cardiovasculares y diabetes con el consumo de leche (por ejemplo, Elwood *et al.*, 2010; Fleming y Kris-Etherton, 2014; Givens, 2010).

La fracción insaturada de los AG de la leche es de interés por su potencial efecto positivo en la salud humana al integrar, entre otros compuestos, ácidos grasos considerados esenciales de las series omega-6 y omega-3. El ácido oleico (de la serie omega-9) es el principal ácido graso monoinsaturado, valorado por un efecto de disminución de las concentraciones de colesterol plasmático, colesterol LDL y triacilglicerol (Mensink *et al.*, 2003). Con la carne, la leche es la fuente principal de

aporte de ácido ruménico (C18:2*c9t11* o CLA*c9t11*) a la dieta humana (Chilliard *et al.*, 2001), el cual es considerado beneficioso para la salud por sus potenciales efectos antiaterogénico, anticarcinogénico y anticolesterolémico, entre otros (Williams, 2000). Este ácido graso es una mezcla de isómeros posicionales y geométricos del ácido linoleico, siendo su principal isómero. Este se produce principalmente por vía endógena en la glándula mamaria a partir del TVA, que actúa como precursor y, por tanto, es asociado a los mismos efectos beneficiosos que son atribuidos a los CLA (De Blas, 2004). El TVA es un isómero que pertenece al grupo de los trans-C18:1, presentes también en las grasas vegetales hidrogenadas, producidas a nivel industrial, aunque su perfil es claramente diferente. Mientras los isómeros C18:1*t9* y C18:1*t10* son los mayoritarios en las grasas vegetales hidrogenadas, en la leche el principal AG de este grupo es el TVA. El consumo elevado de C18:1*t10* está relacionado con un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares (Hodgson *et al.*, 1996), por lo que los AG trans de los aceites hidrogenados industrialmente se consideran perjudiciales para la salud humana (Krettek *et al.*, 2008), mientras que los de la leche son beneficiosos. La relación entre los isómeros *trans10* y *trans11* del C18:1 de la leche puede ser modificada por la alimentación, siendo conocido que el consumo de dietas con alto contenido en almidón y baja proporción de pastos frescos está relacionado con un aumento en la leche del isómero C18:1*t10* (Khan *et al.*, 2011).

Entre los AG poliinsaturados figura, además de los mencionados anteriormente, el ácido alfa-linolénico, cabeza de la serie denominada omega-3, precursor de los ácidos araquidónico (20:4*n6*), eicosapentaenoico (20:5*n3* o EPA) y docosahexaenoico (22:6*n3* o DHA). Su consumo está relacionado con la prevención de enfermedades cardiovasculares, metabólicas, inmunológicas, neurológicas e incluso cancerígenas (Schmitt, 2010). La relación entre los ácidos grasos omega-6 y omega-3 en la dieta humana saludable debe ser baja, en torno a un valor no superior a 5, siendo la leche uno de los alimentos no marinos con una relación más favorable (Haug *et al.*, 2007). Esta capacidad de contribuir a equilibrar la dieta mediante el consumo de leche es de interés, toda vez que la relación omega-6/omega-3 de la dieta europea está en el entorno de 10-14 a 1 (Bartsch *et al.*, 1999).

1.6. Necesidades en vitaminas de los rumiantes

Las vitaminas son moléculas orgánicas de estructura molecular compleja, que son esenciales para la salud, crecimiento y reproducción de los animales. Los forrajes son

una importante fuente de vitaminas para los rumiantes, que presentan unas necesidades en vitaminas diferentes de las de los animales monogástricos. Excepto en los animales muy jóvenes, que aún no tienen el rumen funcional, los rumiantes son independientes del suministro exógeno de las vitaminas del grupo B, excepto de la niacina, y la vitamina K (sintetizadas en el transcurso del metabolismo ruminal), la vitamina C (sintetizada a partir de glucosa y galactosa) y dependiendo de las condiciones, de la niacina (sintetizada a partir del triptófano), por lo cual solo dependerían del suministro en la dieta de las vitaminas A (retinol), E (tocoferol) y D (calciferol). En ausencia de aportaciones de vitaminas sintéticas en la ración, los rumiantes son totalmente dependientes de los forrajes para estas tres vitaminas, ya que su contenido en los concentrados normalmente es muy bajo (Machlin, 1984). La vitamina A solo existe en productos animales, sin embargo, los vegetales tienen provitamina A (carotenoides), de los que la forma más abundante es el β -Caroteno, que se transforma en vitamina A en el epitelio intestinal. La vitamina E, presente en los forrajes, tiene en el α -tocoferol la forma más abundante y activa de entre las ocho variantes que presenta. La vitamina D se deriva de la activación de los esteroides por la radiación ultravioleta de la luz solar en los tejidos animales (forma D3: colecalciferol) o vegetales (forma D2: ergocalciferol), teniendo ambas formas igual actividad biológica en rumiantes (McDowell, 1989).

Los requerimientos vitamínicos para rumiantes se indican en la Tabla 1.1, en la cual se incluye la referencia a las necesidades de niacina, ya que esta vitamina es aportada a veces en la dieta de vacas de alta producción al comienzo de la lactación (Ballet *et al.*, 2000).

Tabla 1.1. Requerimientos de vitaminas para rumiantes

	Vitamina A (Retinol)	Vitamina E (Tocoferol)	Vitamina D (Calciferol)	Niacina (B3, Factor PP)
Tipo de animal	UI/cabeza y día	UI/cabeza y día	UI/cabeza y día	g/cabeza y día
Vacas de leche en lactación	80.000-120.000	100-1.000	15.000-50.000	1-2
Vacas de leche secas	75.000-125.000	500-900	10.000-20.000	0-1
Ganado de engorde, en acabado	40.000-70.000	200-1.500	4.000-7.000	1-2

1 UI de vitamina A: 0.3 μ g de retinol; 1 UI de vitamina E: 1 mg de α -tocoferol; 1 UI de vitamina D: 0.025 μ g de vitamina D3

Fuente: Ballet *et al.* (2000)

Los forrajes frescos y conservados son fuentes importantes de vitaminas A, E, D y niacina. Sin embargo, es difícil dar estimaciones precisas de los valores medios, puesto que el contenido de los forrajes es muy variable, estando condicionado por factores

como el genotipo, el estado de madurez, las condiciones climáticas y la forma de conservación (Ballet *et al.*, 2000). Por lo general, la leche de vacas que consumen forrajes pratenses frescos o ensilados tiene niveles más altos de las citadas vitaminas, comparadas con el ensilado de maíz forrajero (Havemose *et al.*, 2004). Además, los ensilados son una fuente más rica en retinol y tocoferol que el heno, debido a las elevadas pérdidas en estos compuestos sufridas durante el secado y posterior almacenamiento del heno (Shingfield *et al.*, 2005). Por otra banda, los factores descritos anteriormente, y otros factores ligados a la planta y al animal modifican las tasas de conversión y absorción de las provitaminas y vitaminas de los forrajes. La elevada incertidumbre y falta de precisión en la estimación de las cantidades disponibles para los rumiantes a partir de los forrajes hace que la industria de alimentos para rumiantes haya escogido la práctica de cubrir la totalidad de las necesidades vitamínicas de los animales con fuentes sintéticas, ignorando en muchos casos el aporte de los forrajes, sobre todo en el caso de vacas de leche de alta producción que consumen forrajes conservados.

1.7. Carotenoides y Tocoferoles: antioxidantes naturales presentes en los pastos y forrajes

Los micronutrientes carotenoides y tocoferoles, presentes en los pastos y forrajes, además de ser fuentes de vitaminas A y E necesarias para la vaca de leche, tienen características antioxidantes y, dado su carácter lipofílico, están presentes en la grasa de la leche (Morales *et al.*, 2000). Su concentración depende del tipo de dieta ingerida, siendo los pastos las fuentes naturales más importantes para la leche de vacuno (Jensen *et al.*, 1999), en particular de β -caroteno, vitamina A (retinol) y vitamina E (α -tocoferol) (Martin *et al.*, 2004).

El contenido en antioxidantes de la leche depende, fundamentalmente, de la proporción en la dieta del forraje y el tipo de forraje consumido. Las dietas ricas en hierba, especialmente cuando se realiza pastoreo, producen leche con un contenido superior en antioxidantes comparadas con las dietas de ensilado de maíz y concentrados (Chilliard *et al.*, 2001; Agabriel *et al.*, 2007).

La mayor parte del α -tocoferol y del β -caroteno se encuentra en las hojas de los forrajes (Brown, 1953) y su concentración es más elevada en el forraje en estado vegetativo, descendiendo conforme avanza la madurez de la planta (Park *et al.*, 1983). Por lo general, las gramíneas tienen una concentración de α -tocoferol superior al de las

leguminosas, sobre todo en estado juvenil, mientras que estas son más ricas en β -caroteno que las primeras (Danielsson *et al.*, 2008). Este efecto está relacionado con una relación hoja/tallo más alta para las leguminosas, en comparación con las gramíneas, en estados avanzados de madurez (Olsson *et al.*, 1955). En la Tabla 1.2 se muestra un resumen de distintos trabajos que cuantificaron la concentración de β -caroteno y de α -tocoferol en especies pratenses, gramíneas y leguminosas, mostrando el efecto del estado fenológico de la planta.

Tabla 1.2. Influencia del estado de madurez en la concentración de β -caroteno y de α -tocoferol en gramíneas y leguminosas pratenses

Familia y estado fenológico	β -Caroteno (mg/kg MS)		α -Tocoferol (mg/kg MS)	
	Media	Rango	Media	Rango
Gramíneas				
Vegetativo a espigado	278	84-606	253	121-400
Inicio a final floración	133	53-258	98	40-154
Madurez	59	4-156	22	9-30
Leguminosas				
Vegetativo a botón floral	309	140-552	129	79-202
Inicio a final floración	192	97-488	116	109-127
Madurez	130	80-252	-	-

Fuente: diversos autores, citados en Ballet *et al.* (2000)

Los factores climáticos afectan a la concentración de antioxidantes liposolubles de los forrajes. En general, el tiempo fresco y húmedo proporciona mayores contenidos en β -caroteno y α -tocoferol que el tiempo seco y cálido, siendo conocido desde hace tiempo que la luz intensa reduce la producción de carotenoides en las hojas de trébol (Beck y Redman, 1940) y que las condiciones de temperaturas moderadas y humedad adecuada favorecen una relación hoja/tallo más elevada y por tanto mayores concentraciones de β -caroteno y α -tocoferol (Wilson, 1981).

Cuando la planta se siega, el β -caroteno se oxida rápidamente, lo que motiva que la concentración en el forraje conservado sea inferior a la del forraje fresco (Kalač y McDonald, 1981). El presecado reduce las concentraciones de carotenoides y tocoferoles en el forraje segado, especialmente con tiempo seco y alta insolación (Ballet *et al.*, 2000). Aunque algunos estudios citan valores de entre el 40-60% de reducción del conjunto de antioxidantes liposolubles en el ensilado respecto del forraje segado (Carter, 1960), se encuentran en la bibliografía otros estudios que indican valores de pérdidas sensiblemente inferiores (en torno al 20%) en el caso de ensilados bien conservados

(Nozière *et al.*, 2006), mientras que otros autores no encuentran relación entre la calidad de conservación de los ensilados y el nivel de pérdidas de antioxidantes (Kalač, 1983). Por otra banda, Lindqvist *et al.* (2011) indican resultados de un estudio en el que el presecado corto de la hierba de mezclas gramínea-leguminosa (incremento de MS de 12.7% a 27.3%) no afectó al contenido de β -caroteno y α -tocoferol, postulando que el uso de inoculantes a base de bacterias lácticas homofermentativas es un método apropiado para preservar el contenido en antioxidantes en el ensilado. Una revisión sobre los factores de la planta, medio y manejo que afectan a la concentración de antioxidantes liposolubles en forrajes puede encontrarse en Thafvelin y Oksanen (1996), Lynch *et al.* (2001) y Danielsson *et al.* (2008).

En la Tabla 1.3 se muestran valores de la concentración media de β -caroteno y α -tocoferol en forrajes frescos y conservados por deshidratación, ensilado o secado al sol en el campo, mostrando el marcado descenso en la concentración de antioxidantes, en particular en el caso de los henos.

Tabla 1.3. Contenido en β -caroteno y α -tocoferol de forrajes frescos y conservados

	β -Caroteno (mg/kg MS)			α -Tocoferol (mg/kg MS)		
	Media	Rango	s.d.	Media	Rango	s.d.
Forrajes verdes (1)	196	15-606	108	161	9-400	91
Forrajes deshidratados (2)	159	66-271	73	125	28-238	57
Ensilados (3)	81	2-276	68	155	0-310	-
Henos (1)	36	1-162	34	61	10-211	62

(1) Gramíneas y leguminosas pratenses; (2) Alfalfa; (3) gramíneas y leguminosas pratenses y maíz.

s.d.: desviación estándar de la muestra

Fuente: diversos autores, citados en Ballet *et al.* (2000)

1.8. Composición en antioxidantes liposolubles en la leche y efectos en la salud humana

Los antioxidantes liposolubles presentes en la leche, de la misma forma que los PUFA, se consideran compuestos beneficiosos para la salud humana (Lattera *et al.*, 2010). En este sentido debe ser considerada la nada despreciable contribución de la leche a la ingesta diaria de antioxidantes, toda vez que en la dieta de la población española la leche suministra entre el 1 y el 4% del consumo total de antioxidantes (Pulido *et al.*, 2003). Tanto por el papel de los carotenoides y vitamina E como antioxidantes, como los carotenoides como precursores de la vitamina A, estos compuestos influyen en la calidad nutricional de la leche. Por otra banda, además, modifican las propiedades sensoriales, bien por la capacidad de estos antioxidantes naturales para aumentar la

estabilidad oxidativa de la leche (Focant *et al.*, 1998; Granelli *et al.*, 1998), bien por la modificación del color de la leche a un tono amarillo causada por los carotenoides. Esta última característica ha sido considerada como un biomarcador potencial del sistema de producción seguido (Röhrle *et al.*, 2011), indicando un manejo de calidad en vacas de leche, relacionado con el consumo de pastos frescos y con el bienestar animal.

El impacto positivo de los antioxidantes liposolubles sobre la salud humana fue revisado extensivamente por diversos autores, entre ellos Bendich (1993), Schneider (2005) y Willcox *et al.* (2004), poniendo de manifiesto sus efectos sobre la reducción del estrés oxidativo, relacionado con el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, ciertos tipos de cáncer y otras enfermedades crónicas incluido el envejecimiento prematuro.

Para ilustrar el efecto de la variabilidad en la concentración de carotenoides y vitaminas A y E en la leche de vaca, causada por el diferente manejo alimentario, en la Tabla 1.4 se muestran valores medios obtenidos en condiciones experimentales donde, a partir de una dieta basal de heno y concentrado, se procedía a una substitución progresiva del heno por ensilado de hierba y un concentrado proteico a base de alfalfa (Calderón *et al.*, 2007).

Tabla 1.4. Concentración de carotenoides y vitaminas A y E en vacas con diferentes dietas de forraje y la misma aportación de concentrado

	Proporción de heno/mezcla de ensilado de hierba y alfalfa ^(†)			
	100/0	67/33	33/67	0/100
Luteína				
µg/ml	0.024	0.024	0.023	0.024
µg/g grasa	0.72	0.73	0.71	0.77
All-trans-β Caroteno				
µg/ml	0.079	0.114	0.115	0.112
µg/g grasa	2.31	3.54	3.57	3.55
13-cis-β Caroteno				
µg/ml	0.017	0.020	0.017	0.021
µg/g grasa	0.44	0.56	0.56	0.67
Total β Caroteno				
µg/ml	0.094	0.132	0.133	0.132
µg/g grasa	2.75	4.10	4.13	4.22
Total Carotenoides				
µg/ml	0.119	0.155	0.157	0.155
µg/g grasa	3.47	4.82	4.85	4.97
Vitamina A				
µg/ml	0.171	0.193	0.193	0.181
µg/g grasa	5.02	6.00	5.93	5.79
Vitamina E				
µg/ml	0.266	0.299	0.322	0.351

µg/g grasa	7.80	9.25	9.76	11.31
------------	------	------	------	-------

^(*) Ensilado de hierba 75% y concentrado proteico de alfalfa 25%

Fuente: Calderón *et al.* (2007)

En la Tabla 1.5 se muestran valores medios de la leche de tanque de una muestra de explotaciones, ecológicas y convencionales con distinto grado de intensificación, en los períodos de alimentación estival e invernal, con diferente proporción de pastos frescos, forrajes conservados y concentrados (Butler *et al.*, 2008).

Tabla 1.5. Concentración de antioxidantes en la leche de granjas de leche ecológicas y granjas convencionales extensivas e intensivas

Concentración (µg/g de grasa)	Ecológicas	Convencionales	
	(1)	Bajo input (2)	Alto input (3)
Vitamina E			
α- Tocoferol	28.5	32.0	21.4
Carotenoides			
β Caroteno	6.95	9.29	5.35
Luteína	0.77	1.14	0.46
Zeaxantina	0.16	0.20	0.11
Total carotenoides	7.88	10.64	5.91

Dieta (en % ingesta diaria de MS): (1) En período de pastoreo: 84% forraje fresco + 8% forraje conservado (sin ensilado de maíz) + 8% concentrado (sin suplementación vitamínica); En período invernal: 24% forraje fresco + 54% forraje conservado + 23% concentrado (sin suplementación vitamínica); (2) En período de pastoreo: 95% forraje fresco + 5% concentrado (sin suplementación vitamínica); En período invernal: sin datos; (3) En período de pastoreo: 37% forraje fresco + 29% forraje conservado (con ensilado de maíz) + 34% concentrado (450-750 UI de vitamina E/vaca y día); En período invernal: 56% forraje conservado + 44% concentrado (250-674 UI de vitamina E/vaca y día)

Fuente: Butler *et al.* (2008)

1.9. Información acerca de la presencia de antioxidantes en los pastos y en la leche en las granjas lecheras gallegas

No existe hasta la fecha información acerca de la relación entre los modelos de producción de leche de las granjas gallegas y la presencia de antioxidantes en los pastos y en la leche. La información existente en la bibliografía es escasa y de limitada utilidad para la industria, ya que en ocasiones los estudios que relacionan dieta y composición de la leche en carotenoides y tocoferoles ofrecen resultados contradictorios (Bergamo *et al.*, 2003; Toledo y Anden, 2003). El interés y necesidad de obtener información local viene dada por la comentada variabilidad en la concentración de β-caroteno y α-tocoferol en los forrajes por factores de la planta, clima y manejo, y por los factores ligados al manejo de la alimentación (proporción de ingredientes en la dieta) y al animal, que condicionan la tasa de transferencia de antioxidantes desde el alimento a la leche y la composición de esta (Nozière *et al.*, 2006).

1.10. Nuevas tendencias en el sector

Los productos lácteos son una importante fuente de nutrientes (en particular de proteínas de alta calidad, energía, minerales y vitaminas esenciales) cuyo consumo está incluido en las recomendaciones para una dieta sana y equilibrada por las organizaciones de salud pública de todo el mundo (Rice *et al.*, 2013). Actualmente esto puede no ser suficiente, ya que existe una creciente preocupación de los consumidores por las características globales de los alimentos consumidos, que ha creado progresivamente un nuevo concepto de calidad, en el que se incluyen los atributos tradicionales relativos a valor nutricional, sabor, aroma y color junto con nuevos indicadores relativos a aspectos éticos como el bienestar animal y el impacto medioambiental (Luykx y van Ruth, 2008). A esto se une que los consumidores están cada vez más atentos a los métodos activos de preservar su condición saludable y aumentar lo que podemos denominar “esperanza de salud” y no solamente su “esperanza de vida” (Hözer y Avni-Kirmazi, 2010).

En general, se considera que los sistemas de manejo al aire libre con animales en pastoreo son percibidos por los consumidores como más respetuosos con los animales y el medio ambiente (Weinrich *et al.*, 2014), temas sobre los que existe abundante bibliografía. Por ejemplo, Burow *et al.* (2013) mencionan un mejor bienestar de los animales que están un mayor número de horas en el pasto, mientras que Conant *et al.* (2013) señalan el papel de las praderas en el secuestro de carbono, un servicio ecosistémico aportado por estas que no es tan visible para la sociedad, pero sí vital. Al igual que el secuestro de carbono, existen otros servicios ecosistémicos que son proporcionados por las praderas y la producción en base a pastos, pero no son tan obvios para la sociedad como lo es la producción animal (Plantureux *et al.*, 2016). A esto se suman los posibles beneficios que el consumo de productos basados en producciones con más forraje verde puede tener sobre la salud humana en compuestos como los AG o los antioxidantes liposolubles, ya citados en apartados anteriores.

Algunos componentes de los forrajes consumidos en forma fresca o como ensilados se transfieren a la leche y afectan a las propiedades sensoriales del producto crudo, a la tecnología y posibilidades de industrialización de la leche y sus derivados, y a la salud de los consumidores. Puesto que la alimentación es una forma efectiva para modificar la calidad sensorial de los productos lácteos, incluso en el caso de mezclas de tanques de

leche, es posible para la industria transformadora comercializar o procesar distintos tipos de leche, que pueden ser de composición específica y diferente. Sin embargo, los sistemas de producción en base a pasto están decreciendo en los últimos 30 años en Europa, observándose un descenso progresivo de las superficies de pastoreo y la substitución por la producción de cultivos anuales como el maíz (Huyghe *et al.*, 2014), en paralelo con el incremento de la dependencia de inputs del exterior de las granjas de leche, en particular de concentrados para la alimentación de las vacas (Isselstein *et al.*, 2005).

En países como Holanda (desde 2012) y Alemania (desde 2016) se impulsaron acuerdos a nivel nacional a favor del pastoreo, involucrándose un gran número de organizaciones de toda la cadena láctea, entre las que se encuentran productores, industria, distribución, educación o partidos políticos. Entre las principales medidas puestas en marcha, se encuentran la creación de una marca diferenciada para la leche de pastoreo o el pago de una prima a las ganaderías en las que las vacas permanezcan en el pasto durante un determinado período anual. Desde el 2018, dos importantes empresas lácteas con recogida en Galicia comercializan leche bajo la denominación de “leche de pastoreo”. La leche de pastoreo procede de granjas, en su mayoría gallegas, donde a semejanza de la normativa de otros países europeos, el manejo de los animales debe cumplir un referencial relativo al número de días de pastoreo (120-150 días/año), al tiempo de permanencia en el pasto (5-6 horas/día), carga máxima (2,5 vacas/ha SAU) o al cumplimiento de normas de bienestar animal basadas en el estándar europeo. En las condiciones agroclimáticas en las que se desenvuelve la producción lechera en Galicia, la disponibilidad de pastos se limita al período de inicio de primavera hasta julio y al período de otoño. Esta estacionalidad del crecimiento del pasto obliga a que la alimentación dependa entre 5 y 6 meses de los forrajes ensilados. Según el estudio de Flores *et al.* (2017), actualmente, se puede considerar como leche proveniente de pastoreo un 15% de la producción de toda la cornisa cantábrica.

Otra posible alternativa es la producción de leche en ecológico. Los datos ofrecidos por el informe sobre agricultura ecológica del MAPAMA (2019) indican que en Galicia existían 109 explotaciones de leche de vacuno ecológicas, el 1.4% de las explotaciones de Galicia, con 4.355 cabezas que certificaban 15.7 mil toneladas de leche, aproximadamente el 0.6% de la leche de Galicia. En el conjunto de España había 201 granjas con 10.473 cabezas y una producción certificada de 27.8 mil toneladas de leche,

con lo que Galicia representaría el 54.2% de las granjas lecheras ecológicas y el 56.5% de la producción española. En la UE-15 los porcentajes de leche ecológica sobre el total de leche son más elevados que en España, desde el 2% en Francia o el 2.2% en Alemania hasta el 12.7% en Suecia o el 14.4% en Austria, lo que da una idea del potencial de crecimiento de esta actividad. Además, los datos disponibles indican que, globalmente, la cuota de mercado de los productos orgánicos crece rápidamente en Europa (FiBL & IFOAM, 2015).

La normativa que regula esta producción indica que los sistemas ecológicos engloban un conjunto de técnicas que excluyen en lo posible el uso de fertilizantes, pesticidas y antibióticos, entre otros, con el objetivo de preservar el medio ambiente, mantener o aumentar la fertilidad del suelo y proporcionar alimentos con todas las propiedades naturales (MAPAMA, 2007). Según la norma que regula la producción ecológica (BOE, 2007), un sistema de producción de leche ecológico implica un menor número de animales por superficie, limita el uso de medicamentos y exige que la ingestión de alimento por parte del ganado se base en el aprovechamiento forrajero, de forma que al menos el 60% de la MS de la ración diaria esté formada por forrajes, empleando concentrados ecológicos y acceso al pastoreo siempre que las condiciones lo permitan.

Debido a que la nutrición de las vacas se basa sobre todo en el uso del pastoreo y de la hierba conservada, con menor presencia de concentrados y ensilado de maíz, la leche ecológica tiene un mayor contenido en ácidos grasos y antioxidantes liposolubles beneficiosos que la leche convencional (Bloksma *et al.*, 2008; O'Donnell *et al.*, 2010).

La autenticidad y trazabilidad son cuestiones relevantes para conseguir una diferenciación de los productos con la que garantizar el reconocimiento y la aceptación de los precios por parte de los consumidores (Moloney *et al.*, 2014), siendo necesario disponer de métodos que permitan garantizar su origen o sistema de producción. Según diversos autores, estos métodos pueden estar basados en la plasticidad de la composición de la leche como consecuencia de las variaciones de la dieta. Por ejemplo, según Ferlay *et al.* (2008), la presencia de pastos frescos en la dieta se denota por un incremento en la concentración de AG de tipo poliinsaturados, de cadena impar y de cadenas ramificadas, unido a un descenso en el contenido de AG saturados. Martín *et al.* (2005) también afirman que el contenido en AG, carotenoides y vitaminas liposolubles A y E de los productos lácteos son reconocidos como trazadores potenciales de manejo alimenticio de los animales, pudiendo ser de utilidad para la industria como indicadores

objetivos del origen del producto. Hasta el momento no existen métodos disponibles para la industria y la interprofesión española para verificar si una muestra de leche procede o no de vacas que consumen pastos frescos en base a su composición, siendo este aspecto de potencial interés para las industrias que comercializan leche de pastoreo.



2. OBJETIVOS

El objetivo general de esta tesis doctoral es contribuir a mejorar la información acerca de las características de los modelos productivos existentes en el sector lácteo gallego y la influencia que tienen los sistemas de alimentación más típicos en las granjas gallegas sobre la composición de ácidos grasos y antioxidantes liposubles presentes en la leche. Para alcanzar este objetivo general, el trabajo se ha dividido en cuatro capítulos, en los que se abordan los siguientes objetivos específicos:

Capítulo I: Analizar la estructura productiva y sistemas de alimentación de una muestra de explotaciones lecheras representativas de los distintos sistemas de producción de leche de Galicia, incluida la producción ecológica.

Capítulo II: Estudiar el efecto de los sistemas de alimentación en explotaciones de vacuno lechero de Galicia sobre la composición de la leche de tanque, su perfil de ácidos grasos y de antioxidantes liposolubles.

Capítulo III: Evaluar, en condiciones de alimentación controlada, el efecto de cuatro tipos de dietas con una composición variable de pastos frescos, ensilajes de hierba y de maíz y concentrados, sobre la producción de leche y su composición fisicoquímica, perfil de ácidos grasos y de antioxidantes liposolubles.

Capítulo IV: Evaluar, en condiciones de alimentación controlada, el efecto de variar la proporción de ensilajes de hierba y de maíz en dietas completas, sobre la producción de leche y su composición fisicoquímica, perfil de ácidos grasos y de antioxidantes liposolubles.



3. CAPÍTULO I

ANÁLISIS DE LA ESTRUCTURA, SISTEMAS DE ALIMENTACIÓN Y PERSPECTIVAS DE FUTURO EN UN PANEL DE EXPLOTACIONES LECHERAS GALLEGAS CON DIFERENTE GRADO DE INTENSIFICACIÓN

3.1. INTRODUCCIÓN

La producción láctea de vacuno no solamente es la más importante actividad agraria de Galicia, sino que también es absolutamente imprescindible para la supervivencia económica y social y la vertebración territorial de esta Comunidad. Esta es una característica que diferencia nítidamente al sector lácteo gallego de otros sectores lácteos de la UE. Galicia responde en general al esquema de área especializada con serios problemas socioeconómicos y demográficos sobre todo en las zonas rurales, con escasas alternativas a la producción láctea allí donde se desenvuelve.

Las explotaciones de leche de Galicia, como en el resto de la UE, han tenido un intenso proceso de ajuste en las últimas tres décadas, como consecuencia de la necesidad de adaptarse a los cambios del mercado, de los precios de los insumos y de la leche y de los cambios en la normativa europea, centrada fundamentalmente en la desaparición del régimen de cuotas en abril de 2015. El número de explotaciones ha descendido notablemente, en particular las de menor dimensión y se han incrementado el número de las más grandes que continúan activas en el sector. El proceso de adaptación ha modificado la estructura productiva de las explotaciones y ha sido enfrentado por sus titulares de diversas formas, dando lugar a diferentes modelos de producción.

No existe, hasta el momento, una descripción detallada de las características estructurales y de los sistemas de alimentación de los distintos modelos de producción seguidos en las explotaciones de Galicia. Con el objetivo de tener un mejor conocimiento de las actividades de producción de leche en este sector, se presenta en este apartado de la tesis el análisis de los datos de estructura productiva y sistemas de alimentación de una muestra de explotaciones lecheras que se consideran representativas de los distintos sistemas, incluida la producción ecológica, obtenidos mediante entrevista personalizada a finales del año 2016.

3.2. MATERIAL Y MÉTODOS

3.2.1. Grupos de explotaciones y tamaño de la muestra

Se definieron cinco grupos de explotaciones para elegir a las integrantes de la muestra, siguiendo la definición de “dietas típicas” contenida en el trabajo de Flores *et al.* (2017). Los grupos se diferenciaron según el sistema de alimentación predominante, referido al aprovechamiento de la hierba en pastoreo por las vacas en lactación durante los períodos de crecimiento activo del pasto y, en caso contrario, al tipo de ensilaje predominante en la dieta (hierba y/o maíz), en el caso de los sistemas de "todo ensilaje" con animales estabulados permanentemente. Dos de los grupos de explotaciones eran de pastoreo, uno de ellos de producción ecológica (PE) y otro de pastoreo convencional (PC) y los tres restantes basaban la alimentación en raciones completas suministradas a animales estabulados permanentemente, que dependían fundamentalmente del ensilaje de hierba (EH), del ensilaje de maíz (EM) o de ambos en aproximadamente igual proporción (EH-EM). Las explotaciones (50 en total) fueron elegidas en función de la información previa facilitada por un agente de innovación y asesoramiento en contacto directo con las mismas, estando cada grupo compuesto por 10 explotaciones, que se pueden considerar como representativas de cada tipología de alimentación. Se diseñó un modelo de encuesta que incluía más de 200 preguntas relativas a distintos aspectos que caracterizan el sistema de producción, entre las que se incluían la composición del rebaño, producción, mano de obra, base territorial, pastos, cultivos forrajeros, conservación de forrajes, sistema de alimentación e instalaciones.

3.2.2. Cuestionario y entrevistas

Se elaboró un modelo de encuesta que contenía una serie de preguntas relativas a distintos aspectos del proceso de producción como: mano de obra utilizada, composición del rebaño, base territorial, cultivos forrajeros, técnicas de cultivo y aprovechamiento de los forrajes, sistema de alimentación, instalaciones, formación del titular, asesoramiento técnico y perspectivas de futuro. La encuesta se realizó mediante entrevista personalizada a los titulares de las explotaciones individuales y, en el caso de las sociedades, a la persona responsable de la gestión, teniendo lugar la recogida de datos durante el primer semestre de 2016, con la asistencia del agente de asesoramiento conocedor de las explotaciones.

3.2.3. Estimación de la composición de la dieta

Entre las preguntas efectuadas a las personas titulares de las explotaciones figuraba la composición de la dieta del rebaño vacuno lechero en las cuatro estaciones del año, identificando las cantidades ofrecidas en comedero de cada uno de los ingredientes de la ración diaria. La estimación del consumo de pasto en las explotaciones de los grupos PC y PE se obtuvo por diferencia entre la estimación de consumo MS total determinado por la producción media de leche por vaca y el consumo de MS en comedero, según la expresión $IMSp = IMSt - IMSc$, donde $IMSp$ es la ingestión (kg MS/día) de pasto, $IMSt$ es la ingestión total de MS e $IMSc$ es la ingestión de MS consumida en el comedero. El valor de $IMSt$ se obtuvo a partir de la expresión $IMSt = 12.46 + 0.372 \times PL_{4MG}$, derivada del NRC (2001), considerando una vaca tipo Holstein con un peso vivo de 650 kg y que estaba en la mitad de la lactación, siendo PL la producción de leche (kg/vaca y día) estandarizado al 4% de materia grasa (MG), calculado como $PL_{4MG} = PL \times (0.15 \times MG\% + 0.4)$. Para calcular el valor de $IMSc$ se utilizó la información obtenida acerca de las cantidades ofrecidas diariamente a las vacas en lactación, el número de vacas ordeñadas y los valores de los análisis de alimentos disponibles en la explotación, en particular el de MS de los ensilajes de hierba y de maíz. Para el resto de los ingredientes, en caso de ausencia de valores analíticos, se tomaron valores medios de 85% MS para henos de hierba, 90% MS para alfalfa deshidratada, pajas, concentrados, harinas, tortas de oleaginosas, pulpa de remolacha y residuos secos de destilerías y 25% MS para los bagazos húmedos. En dos explotaciones de pastoreo donde no había datos analíticos de los ensilajes se consideró un contenido medio de MS del 33% en ambos casos, por ser estos los valores medios de las series analíticas de las muestras de ambos forrajes analizadas en el LIGAL en los últimos doce años (Pereira-Crespo *et al.*, 2016).

3.2.4. Cálculo de la producción de forrajes

Se calculó la producción neta de forraje de las explotaciones utilizando las superficies de los distintos aprovechamientos de la SAU de cada explotación y aplicando los siguientes coeficientes de productividad de MS por hectárea, para los distintos cultivos: praderas 6.8 t MS/ha, prados 5.1 t MS/ha, pastizales 2.5 t MS/ha, maíz forrajero 11.0 t MS/ha, otros cultivos de verano 6.0 t MS/ha, raigrás italiano, cereales de invierno y otros cultivos forrajeros de invierno 5.1 t MS/ha. Estos valores tienen en cuenta la utilización de la MS del pasto cuando se aprovecha a diente, así como las pérdidas de MS en el proceso de

conservación del forraje y se basan en resultados medios disponibles en el Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (CIAM) (G. Flores, *com. pers.*). Para las explotaciones ecológicas se consideró una producción forrajera minorada en un 25% respecto de los valores anteriores. A partir de estos datos se obtuvo la disponibilidad de forraje de cada granja que, comparada con las cantidades compradas fuera de la explotación permitió estimar el grado de autonomía forrajera de las granjas lecheras.

3.2.5. Definiciones

En cuanto a la base territorial, se siguió la clasificación utilizada por el Instituto Nacional de Estadística en la elaboración de censo agrario (INE, 2009). En el apartado de prados, praderas y cultivos forrajeros, se siguieron las definiciones dadas por el Nomenclátor básico de pastos en España (Ferrer *et al.*, 2001).

3.2.6. Análisis estadístico

En todos los análisis de resultados, la unidad experimental fue la explotación. Para las variables continuas se ha utilizado el análisis de la varianza (ANOVA) de una vía, con el grupo de explotaciones como única variable de clasificación, mediante el procedimiento GLM (SAS v. 9.4), empleando como estadístico de contraste la F de Fisher y efectuando la separación de medias, en caso de significación previa en el análisis de varianza, utilizando la diferencia mínima significativa mediante la opción LSMEANS. Las variables de porcentajes (x) fueron transformadas mediante la función $\arcsen(x)^{0.5}$ antes de ser analizadas en el ANOVA. Para variables binarias (verdadero/falso) y variables ordinales de frecuencias se realizó un test de independencia χ^2 (Chi-square) mediante el procedimiento PROC FREQ de SAS 9.4 para analizar el grado de asociación entre las frecuencias de los valores de dichas variables en cada grupo.

3.3. RESULTADOS

3.3.1. Composición de la ración de las vacas de leche

En las Tablas siguientes se muestran los valores medios de la composición de las dietas consumidas por las vacas de leche en los distintos grupos, expresadas en kg de MS/vaca y día (Tabla 3.1) y en porcentaje sobre la MS total (Tabla 3.2). Los valores de ingestión de MS estimados para las vacas de los grupos alimentados con mezclas completas fue significativamente superior comparada con la de los grupos de pastoreo, siendo la del grupo de producción convencional superior a la del de producción ecológica, con valores medios (en kg MS/vaca y día) de 23.0 kg para EM, 22.1 kg para EH-EM, 22.0 kg para EH, 19.9 kg para PC y 17.6 kg para PE. Los ingredientes básicos considerados para la confección de las raciones fueron, además de la hierba fresca en los grupos de pastoreo y de los ensilajes de hierba y de maíz, los forrajes secos, los concentrados y materias primas.

Como era de esperar, la contribución de los ingredientes a la ración media de las vacas de leche varió significativamente entre grupos, en particular para el forraje que caracteriza a cada uno de ellos. Expresadas en kg MS/vaca y día, las cantidades de hierba verde, ensilaje de hierba, ensilaje de maíz, forrajes secos y de concentrado fueron, respectivamente, de 7.9, 2.2, 1.8, 2.6 y 2.8 kg para PE, de 6.2, 3.6, 2.9, 1.8 y 5.1 kg para PC, de 0.07, 9.6, 3.0, 0.6 y 8.8 kg para EH, de 0.0, 5.1, 8.5, 0.3 y 9.1 para EH-EM y de 0.0, 2.4, 11.0, 1.4 y 9.2 para EM.

Tabla 3.1.- Composición estimada de la dieta media anual consumida por las vacas en lactación, en kg MS/vaca y día

Grupo	Ingesta teórica de MS	Composición de la dieta diaria, en kg MS/vaca de cada ingrediente				
		Hierba verde	Ensilaje hierba	Ensilaje maíz	Forrajes secos	Concentrados
PE	17.6	7.9	2.2	1.8	2.6	2.8
PC	19.9	6.2	3.6	2.9	1.8	5.1
EH	22.0	0.0	9.6	3.0	0.6	8.8
EH-EM	22.1	0.0	5.1	8.5	0.3	9.1
EM	23.0	0.0	2.4	11.0	1.4	9.2
Media	20.9	3.0	4.2	5.6	1.3	6.9
s.e.m.	0.60	0.67	0.61	0.80	0.52	0.71
d.m.s	1.71	1.90	1.74	2.28	1.48	2.03
P	***	***	***	***	*	***

PE: pastoreo (ecológico); PC: pastoreo (convencional); EH: ensilaje hierba; EH-EM: ensilajes hierba y maíz; EM: ensilaje maíz; s.e.m.: error estándar de la media; d.m.s: diferencia mínima significativa entre dos medias de la misma fila ($\alpha=0.05$); P: significación del test F en el ANOVA. NS: $P>0.05$; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$

La hierba fresca proporcionaba el 45.5% de la MS dieta media de las vacas del grupo de pastoreo ecológico, con un consumo de concentrados del 16.0%, siendo estos valores del 31.8% y del 25.2% de la MS total para las vacas de pastoreo convencional. El ensilaje de hierba aportaba el 44.5% de la MS consumida por las vacas del grupo EH, con una proporción de concentrado del 40.0%. Los ensilajes de hierba y de maíz, respectivamente, representaban el 21.9 y el 37.5 % de la MS total consumida por las vacas de EH-EM, con una proporción de concentrado del 39.1% y, finalmente, el ensilaje de maíz representaba el 46.2% y el concentrado el 38.1% de la MS total consumida por las vacas del grupo EM, siendo de destacar la ausencia de diferencias significativas entre los grupos que consumen raciones completas en cuanto a la proporción de concentrado en la ración.

Tabla 3.2.- Composición estimada de la dieta media anual consumida por las vacas en lactación, en porcentaje de cada ingrediente por vaca y día

Grupo	Hierba verde	Ensilaje hierba	Ensilaje maíz	Forrajes secos	Concentrados
PE	45.5	13.3	9.7	15.4	16.0
PC	31.8	18.6	14.9	9.5	25.2
EH	0.0	44.5	13.1	2.4	40.0
EH-EM	0.0	21.9	37.5	1.4	39.1
EM	0.0	10.2	46.2	5.6	38.1
Media	16.6	20.1	25.0	7.0	31.4
s.e.m.	3.79	3.09	3.87	3.04	2.82
d.m.s	10.79	8.78	11.01	8.65	8.00
P	***	***	***	**	***

PE: pastoreo (ecológico); PC: pastoreo (convencional); EH: ensilaje hierba; EH-EM: ensilajes hierba y maíz; EM: ensilaje maíz; s.e.m.: error estándar de la media; d.m.s: diferencia mínima significativa entre dos medias de la misma fila ($\alpha=0.05$); P: significación del test F en el ANOVA. NS: $P>0.05$; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$

3.3.2. Rebaño y producción de leche

Las explotaciones de pastoreo y las del grupo de ensilaje de hierba tenían un número de vacas de leche significativamente inferior comparadas con los dos grupos que basaban su alimentación en el ensilaje de maíz, con valores medios para PE, PC, EH, EH-EM y EM de 40.5, 57.8, 52.3, 93.6 y 137.2 vacas de leche/explotación (Tabla 3.3). La producción media de leche por vaca fue significativamente inferior para las explotaciones de pastoreo ecológico (5801 kg) comparada con las de pastoreo convencional (7254 kg) y ésta a su vez, inferior a las de los grupos que consumían raciones completas basadas en ensilajes, con valores medios para EH, EH-EM y EM de 9112, 9249 y 10127 kg/vaca, respectivamente, que no se diferenciaron entre sí. El superior tamaño de rebaño en EM y EH-EM, comparados con EH permitió elevar la producción anual de leche por explotación hasta los

1440 y 840 mil kg, comparados con los 529 mil kg/explotación de EH, todos ellos numéricamente superiores al valor medio de las explotaciones de pastoreo convencional (401 mil kg/explotación) que solamente fue diferente del grupo EM, mostrando la elevada variabilidad dentro de cada grupo en cuanto a la producción por explotación. La producción media del grupo de pastoreo ecológico (199 mil kg/explotación) fue significativamente inferior a la de los restantes grupos. El número medio de lactaciones por vaca osciló entre 5.2 para PE y 2.7 para EM, descendiendo de forma aproximadamente lineal con el rendimiento unitario de las vacas en lactación, incrementándose de forma inversa el valor de la tasa de reposición, desde 20.2% para PE hasta 37.7% para EM. La carga ganadera (en UGM/ha) más baja correspondió a las explotaciones de pastoreo, con valores de 1.3 (PE) y 1.8 (PC), aumentando a 2.0 (EH), 2.5 (EH-EM) y 3.4 (EM). Los valores medios de PE y de EM fueron, respectivamente, significativamente más bajo y más alto, comparados con los de los otros grupos, que no se diferenciaron entre sí.

Tabla 3.3.- Rebaño y producción de leche

Grupo	Vacas leche	Vacas carne	Nº lactac./ vaca	Tasa reposición†	Producción de leche		Carga (UGM/ha)
					kg/explot. y año	kg/vaca presente§	
PE	40.5	0.7	5.2	20.2	199.588	5.081	1.3
PC	57.8	0.0	4.4	24.8	401.359	7.254	1.8
EH	52.3	0.0	3.7	28.3	529.687	9.112	2.0
EH-EM	93.6	0.0	3.3	32.2	840.451	9.249	2.5
EM	137.2	0.0	2.7	37.7	1.440.545	10.127	3.4
Media	77.2	0.2	3.9	28.6	685.047	8.109	2.2
s.e.m.	20.6	0.4	0.3	2.1	239874	546.1	0.3
d.m.s	58.6	1.0	0.9	6.1	681858	1552.3	0.7
P	*	NS	***	***	**	***	***

† Calculada como la proporción de recría mayor de 12 meses respecto al número de vacas de leche presentes

§ La producción por vaca presente se corresponde con el valor indicado por la persona titular de la explotación durante la entrevista. PE: pastoreo (ecológico); PC: pastoreo (convencional); EH: ensilaje hierba; EH-EM: ensilajes hierba y maíz; EM: ensilaje maíz; s.e.m.: error estándar de la media; d.m.s: diferencia mínima significativa entre dos medias de la misma fila ($\alpha=0.05$); P: significación del test F en el ANOVA. NS: $P>0.05$; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$.

La estimación del consumo de concentrado de la muestra, en relación a la producción de leche, puede considerarse como moderado. Considerando que la producción de leche por vaca se produce en un período normalizado de 305 días y teniendo en cuenta el consumo diario de concentrado a partir de la ingestión diaria de MS y del porcentaje de concentrado de la dieta, el consumo medio de concentrado resultante fue de 259 g/kg de leche. El valor correspondiente al grupo de pastoreo ecológico fue el más bajo de la muestra, con 168 g de concentrado/kg de leche, seguido por el del grupo de pastoreo convencional con 214 g/kg.

Los consumos medios de las explotaciones que alimentan en base a ensilajes con raciones completas estuvieron por debajo de los 300 g/kg de leche, con valores medios de 294, 290 y 277 g/kg de leche, respectivamente, para EH, EH-EM y EM.

En la Tabla 3.4 se advierte la elevada frisonización del rebaño lechero en los grupos alimentados con raciones completas, con porcentajes de vacas de raza Holstein-Friesian de casi el 90% en EH y del 100% en EH-EM y EM respecto del total de vacas del rebaño. Es en los grupos de pastoreo donde hay una mayor proporción de vacas de otras razas y cruzadas con frisonas, que llegan a ser mayoritarias en las explotaciones ecológicas, buscando sin duda mayor rusticidad y adaptación al pastoreo. En las explotaciones de pastoreo ecológico, las razas presentes, además de la frisona, fueron Jersey, Pardo alpina, Roja sueca, Montbeliard, Fleckvieh y los cruces de frisona con estas razas. En las de pastoreo convencional, las razas distintas a la frisona fueron Jersey y cruces de frisona con Jersey, Montbeliard y Fleckvieh.

Tabla 3.4.- Frisonización del rebaño en las explotaciones

Grupo	Razas de vacas lecheras (% en cada grupo)	
	Frisonas	Cruces
PE	27.3	72.8
PC	60.0	40.0
EH	87.5	12.5
EH-EM	100.0	0.0
EM	100.0	0.0
Total	74.9	25.1

Significación del test de homogeneidad (Chi-square): $P < 0.001$. En las columnas con valores nulos en alguna celda, Chi-square puede no ser un test válido. PE: pastoreo (ecológico); PC: pastoreo (convencional); EH: ensilaje hierba; EH-EM: ensilajes hierba y maíz; EM: ensilaje maíz

3.3.3. Mano de obra y productividad

Como se puede observar en la Tabla 3.5, los valores medios de unidades de trabajo anuales (UTA) por explotación fueron de 2.2 para PE, de 2.4 para PC, de 2.2 para EH, de 3.3 para EH-EM y de 4.1 para EM. El porcentaje de mano de obra asalariada osciló entre el 13% en EH hasta el 34% en EM, siendo de señalar que la media de las explotaciones de pastoreo ecológico mostró un valor del 31%, superior al de pastoreo convencional (20%) y al del grupo de ensilaje de hierba (13%). Los valores de productividad se incrementaron con el tamaño de la explotación y con el mayor rendimiento unitario por vaca. Expresados en miles de kg/UTA los valores medios de los grupos fueron: PE 90.4, PC 178.0, EH 245.9, EH-EM 251.6 y EM 306.8, siendo el valor de PE significativamente inferior al de los

grupos que consumían raciones completas con los animales estabulados y el de EM superior al de los dos grupos de pastoreo. El número de vacas de leche manejadas por UTA osciló entre las 19.2 en el grupo PE hasta las 33.1 del grupo EM, siendo significativamente diferentes estos dos valores, mientras que los valores de los restantes grupos, intermedios entre PE y EM, no se diferenciaron significativamente de ellos.

La producción de leche por ha de SAU aumentó rápidamente con el tamaño de la explotación y con el rendimiento medio por vaca, evidenciando una clara intensificación productiva. El valor medio de 4.8 mil kg/ha SAU del grupo de pastoreo ecológico se ve duplicado comparado con el valor medio del grupo de pastoreo convencional (9.8 mil kg/ha SAU), para ascender a continuación en los grupos EH, EH-EM y EM, respectivamente, a 14.0, 15.4 y 22.3 mil kg de leche/ha de SAU.

Tabla 3.5.- Mano de obra y productividad

Grupo	Unidades de trabajo-año (UTA) en la explotación			Productividad		
	Total	Familiar	Asalariada	kg leche/ UTA	Vacas/ UTA	kg leche/ ha SAU
PE	2.2	1.6	0.7	90.416	19.2	4.897
PC	2.4	1.9	0.5	178.043	25.7	9.847
EH	2.2	1.9	0.3	245.939	24.5	14.076
EH-EM	3.3	2.5	0.8	251.615	28.8	15.406
EM	4.1	2.7	1.4	306.882	33.1	22.372
Media	2.9	2.1	0.8	212.367	26.3	13.207
s.e.m.	0.55	0.43	0.38	102546	3.32	1897
d.m.s	1.55	1.23	1.07	291494	9.43	5393
P	*	NS	NS	***	*	***

PE: pastoreo (ecológico); PC: pastoreo (convencional); EH: ensilaje hierba; EH-EM: ensilajes hierba y maíz; EM: ensilaje maíz; s.e.m.: error estándar de la media; d.m.s: diferencia mínima significativa entre dos medias de la misma fila ($\alpha=0.05$); P: significación del test F en el ANOVA. NS: $P>0.05$; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$

3.3.4. Base territorial de la explotación

Las explotaciones de pastoreo y las del grupo de ensilaje de hierba mostraron, de media, los menores valores de SAU, superficie forestal y superficie total de la explotación, comparadas con las explotaciones de los grupos con ensilaje de maíz (Tabla 3.6). El porcentaje de superficie forestal en el total de la explotación fue del 5.1%, oscilando este valor entre el 2.1% para PE y el 13.3% para EM. Los valores medios de SAU fueron de 42.6, 43.3, 37.8, 51.2 y 61.3 ha para PE, PC, EH, EH-EM y EM, siendo los de la superficie forestal, de 0.9, 1.7, 1.6, 1.7 y 7.4 ha, respectivamente, para los citados grupos. A pesar de la magnitud de las diferencias entre grupos, solamente la superficie forestal fue significativamente superior para EM respecto del resto. El porcentaje de SAU que era

pastoreada a lo largo del año por el ganado de leche (incluidas vacas secas y novillas) era del 91% en el grupo de pastoreo ecológico y del 58.1% en el de convencional. En los restantes grupos el aprovechamiento a diente solamente era realizado por las vacas secas y las novillas, en su caso, permaneciendo las vacas lactantes en el establo, con valores respectivos de 42.5%, 1.7% y 0.0% para EH, EH-EM y EM, respectivamente. De media, la superficie concentrada representaba el 44.2% de la SAU, sin diferencias significativas entre grupos. El número medio de parcelas de SAU fue de 41.1, oscilando entre las 30.7 de PE a las 55.4 de EM, sin diferencias significativas entre grupos. El tamaño medio de la parcela de SAU fue de 1.16 ha, oscilando entre las 0.76 ha en EH a las 1.39 ha de PE y EH-EM, siendo los valores de PC y EM de 1.17 y 1.10 ha, respectivamente.

Tabla 3.6.- Superficie de la explotación

Grupo	Superficie Agraria Útil (SAU)		Sup. Forestal, ha	Sup. Total, ha	Sup. pastada ganado leche, ha	Sup. concentrada, ha
	Total, ha	Nº parcelas				
PE	42.6	30.7	0.9	43.6	38.4	15.2
PC	43.3	37.0	1.7	45.1	25.2	14.8
EH	37.8	49.4	1.6	39.4	16.1	9.4
EH-EM	51.2	36.6	1.7	52.9	0.9	34.7
EM	61.3	55.4	7.4	68.7	0.0	27.7
Media	47.9	41.1	2.6	50.3	16.0	21.2
s.e.m.	10.6	13.2	1.6	10.8	4.8	9.8
d.m.s	30.1	37.4	4.6	30.6	13.7	27.9
P	NS	NS	*	NS	***	NS

PE: pastoreo (ecológico); PC: pastoreo (convencional); EH: ensilaje hierba; EH-EM: ensilajes hierba y maíz; EM: ensilaje maíz; s.e.m.: error estándar de la media; d.m.s: diferencia mínima significativa entre dos medias de la misma fila ($\alpha=0.05$); P: significación del test F en el ANOVA. NS: $P>0.05$; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$

En la Tabla 3.7 se indican el porcentaje de explotaciones entrevistadas que declararon haber aumentado la superficie forrajera de la explotación en los últimos 10 años y las formas en las cuales se realizó dicho aumento. Se advierte un comportamiento homogéneo, a este respecto, en los distintos grupos, evidenciado por la no significación del test Chi-square en la tabla de frecuencias. De media, un 84.4% de explotaciones de la muestra indicó que había aumentado la superficie forrajera disponible de la explotación en los últimos 10 años, siendo la forma más común la del arrendamiento, en un 81.4% de los casos, seguido por la compra de tierras (51.1%), la roturación de zonas de monte (44.1%) y la cesión en precario (25.5%), si bien la encuesta no proporcionó información acerca del total de superficie ampliada ni de la importancia relativa de cada modalidad de acceso a la tierra, dentro de cada grupo.

Tabla 3.7.- Aumento de la base territorial en los últimos 10 años

Grupo	Aumentó superficie (%)	Forma de aumentar superficie (%)			
		Compra	Arrendamiento	Cesión	Roturación monte
PE	72.7	50.0	75.0	25.0	62.5
PC	90.0	44.4	77.8	55.5	33.3
EH	87.5	42.8	100.0	0.0	57.1
EH-EM	83.8	60.0	70.0	20.0	50.0
EM	90.0	55.5	88.9	22.2	22.2
Total	84.3	51.1	81.4	25.5	44.1
P	NS	NS	NS	NS	NS

P: Significación del test de homogeneidad (Chi-square). En las columnas con valores nulos en alguna celda, Chi-square puede no ser un test válido. PE: pastoreo (ecológico); PC: pastoreo (convencional); EH: ensilaje hierba; EH-EM: ensilajes hierba y maíz; EM: ensilaje maíz

Tampoco se detectaron diferencias entre grupos en cuanto al régimen de tenencia de la tierra, en porcentaje sobre el total de la SAU (Tabla 3.8). La mayor parte de la superficie forrajera se utiliza en régimen de propiedad (45.8%), mientras que casi un tercio de la superficie está arrendada (34.6%) y el 19.5% restante se usa en régimen de cesión en precario. En la muestra no hay tierras utilizadas en régimen de aparcería.

Tabla 3.8.- Tenencia de la tierra

Grupo	Régimen de tenencia de la tierra (% SAU total)			
	Propiedad	Arrendamiento	Aparcería	Cesión
PE	48.9	34.9	0.0	16.2
PC	46.5	35.0	0.0	18.6
EH	39.3	37.8	0.0	23.0
EH-EM	48.2	34.3	0.0	17.5
EM	44.1	31.9	0.0	23.9
Media	45.8	34.6	0.0	19.5
s.e.m.	9.2	8.9	-	9.5
d.m.s	26.2	25.2	-	26.9
P	NS	NS	-	NS

PE: pastoreo (ecológico); PC: pastoreo (convencional); EH: ensilaje hierba; EH-EM: ensilajes hierba y maíz; EM: ensilaje maíz; s.e.m.: error estándar de la media; d.m.s: diferencia mínima significativa entre dos medias de la misma fila ($\alpha=0.05$); P: significación del test F en el ANOVA. NS: $P>0.05$; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$

3.3.5. Superficies de pastos y cultivos forrajeros

La media de las explotaciones de la muestra tendría 32.9 ha dedicadas a la producción de pastos plurianuales (19.2 ha de praderas, 12.0 de prados y 1.5 de pastizales) y 15.3 ha de cultivos, prácticamente en su totalidad maíz forrajero (Tabla 3.9). Adicionalmente, unas 8.0 ha de cultivos de invierno rotarían con el maíz anualmente en las superficies de cultivo, siendo la rotación más frecuente el raigrás italiano-maíz (51.7% de las explotaciones) seguida de pradera-maíz y de mezclas de raigrás y tréboles con maíz (34.5 y 26.7% de las

explotaciones, respectivamente, mientras que el 17.2% declara sembrar el maíz sin cultivo de invierno (Tabla 3.10).

Tabla 3.9.- Ocupación de la SAU: pastos y cultivos forrajeros

Grupo	Prados, ha	Pastizales, ha	Praderas, ha	Maíz, ha	Cultivos verano, ha	Cultivos invierno, ha	Porcentaje de SAU ocupada por		
							Praderas	Prados	Cultivos
PE	21.7	0.2	17.5	2.9	2.9	1.3	41.5%	51.3%	6.8%
PC	21.7	0.7	16.7	3.1	3.1	2.0	39.7%	51.5%	7.2%
EH	5.0	5.9	26.4	2.8	2.8	2.8	65.9%	12.5%	6.9%
EH-EM	8.2	0.8	19.4	21.2	21.4	11.9	38.9%	16.4%	43.0%
EM	2.1	1.2	17.5	43.8	43.8	21.1	27.1%	3.2%	67.8%
Media	12.0	1.5	19.2	15.2	15.4	8.0	40.0%	25.1%	31.8%
s.e.m.	5.4	1.9	4.2	7.3	7.3	4.2	10.5	3.1	1.2
d.m.s	15.5	5.5	12.1	17.7	17.8	12.0	29.8	8.7	3.3
P	*	NS	NS	***	***	**	NS	*	***

PE: pastoreo (ecológico); PC: pastoreo (convencional); EH: ensilaje hierba; EH-EM: ensilajes hierba y maíz; EM: ensilaje maíz; s.e.m.: error estándar de la media; d.m.s: diferencia mínima significativa entre dos medias de la misma fila ($\alpha=0.05$); P: significación del test F en el ANOVA. NS: $P>0.05$; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$

Tabla 3.10.- Rotaciones de cultivos más frecuentes

Grupo	Maíz-Rg. italiano	Maíz- pradera	Maíz- mezclas de Rg. italiano + tréboles		Maíz-Maíz
PE	0.0	100.0	0.0		0.0
PC	100.0	0.0	33.0		0.0
EH	100.0	0.0	0.0		0.0
EH-EM	54.5	36.4	45.5		27.3
EM	55.5	12.5	22.2		25.0
Total	51.7	34.5	26.7		17.2
P	**	**	NS		*

P: Significación del test de homogeneidad (Chi-square). En las columnas con valores nulos en alguna celda, Chi-square puede no ser un test válido. PE: pastoreo (ecológico); PC: pastoreo (convencional); EH: ensilaje hierba; EH-EM: ensilajes hierba y maíz; EM: ensilaje maíz; Rg: Raigrás

La superficie total ocupada por pastos plurianuales fue significativamente más elevada en las explotaciones de los grupos PE, PC y EH (valores medios de 39.4, 39.1 y 37.2 ha, respectivamente), comparados con EH-EM (28.5 ha) y EM (20.8 ha). Siguiendo una lógica tendencia inversa, igualmente significativa, la superficie media de cultivo de maíz en las explotaciones del grupo EM (43.8 ha) fue superior a la de EH-EM (21.2 ha) y ésta, a su vez, superior a las de EH (2.8 ha), PC (3.1 ha) y PE (2.9 ha).

La ocupación media de la SAU por praderas fue del 40%, sin diferencias significativas entre grupos, oscilando entre el 65.9% de EH y el 27.1% de EM, mientras que la de los prados (25.1% de media) fue superior en las explotaciones de los grupos de pastoreo (51.3 y 51.5% para PE y PC, respectivamente) comparadas con la del resto de los grupos (12.5%

en EH, 16.4% en EH-EM y 3.2% en EM). El porcentaje de ocupación de la SAU con cultivos fue del 67.8% en EM y del 43.0% en EH-EM, siendo ambos valores medios diferentes entre sí y significativamente superiores a los de EH (6.9%), PC (7.2%) y PE (6.8%).

El raigrás inglés es la especie pratense más sembrada en las explotaciones (66.7% de media), seguida por el raigrás híbrido (58.3%), raigrás italiano (29.1%), trébol blanco (56.2%) y trébol violeta (37.5%), como se puede ver en la Tabla 3.11. La frecuencia de uso del raigrás inglés y del trébol blanco difirió entre grupos y siguió una tendencia semejante, con los valores más elevados para el grupo PE (90.0% para ambas especies) y los más bajos para el EM (22.2 y 11.1% para raigrás inglés y trébol blanco, respectivamente) mostrando el resto de grupos unos porcentajes de uso intermedios. No hubo diferencias significativas entre grupos para las frecuencias de uso de las restantes especies.

Entre las explotaciones que siembran maíz, el 53.5% declaran que siempre siembran un cultivo de invierno, un 10.7% nunca realiza cultivo de invierno por razones, fundamentalmente, de acceso a las parcelas tras las lluvias de otoño y un 35.7% indica que, dependiendo de las circunstancias, intercala o no un cultivo entre dos de maíz consecutivos.

Tabla 3.11.- Especies sembradas habitualmente en las praderas

Grupo	% de explotaciones que afirman sembrar habitualmente la especie pratense				
	Raigrás inglés	Raigrás híbrido	Raigrás italiano	Trébol blanco	Trébol violeta
PE	90.0	50.0	10.0	90.0	50.0
PC	80.0	70.0	20.0	60.0	50.0
EH	57.1	28.5	42.8	57.1	28.5
EH-EM	75.0	83.3	41.7	58.3	41.7
EM	22.2	44.4	33.3	11.1	11.1
Total	66.7	58.3	29.2	56.2	37.5
P	NS	NS	NS	NS	NS

P: Significación del test de homogeneidad (Chi-square). En las columnas con valores nulos en alguna celda, Chi-square puede no ser un test válido. PE: pastoreo (ecológico); PC: pastoreo (convencional); EH: ensilaje hierba; EH-EM: ensilajes hierba y maíz; EM: ensilaje maíz

3.3.6. Usos de la superficie de pastos

En la Tabla 3.12 se pueden observar los usos de las superficies ocupadas por pastos plurianuales. Las superficie pastada por las vacas en lactación en el grupo de pastoreo ecológico fue de 32.7 ha y en el de pastoreo convencional de 21.3 ha, representando respectivamente el 77.0% y el 49.3% de la SAU. En el grupo de pastoreo convencional se realizó aprovechamiento de la hierba en verde mediante siega y traslado al establo,

dedicando 3.2 ha (7% de la SAU) a esta actividad, localizada en determinadas parcelas situadas lejos de la explotación a las que no podía acceder el ganado para su aprovechamiento a diente.

La superficie de hierba ensilada (media entre grupos de 24.1 ha, representando el 50% de la SAU) no fue significativamente diferente entre grupos, a pesar de la oscilación entre las 31.4 ha en EH (83% de la SAU) y las 14.9 ha en PE (35% de la SAU). La superficie media destinada a henificación de la hierba en el verano fue de 9.3 ha de media (19% de la SAU), siendo la superficie de las explotaciones del grupo EM (2.9 ha, 5% de la SAU) significativamente inferior a la de los demás grupos, que osciló entre las 14.1 ha en EH-EM (28% de la SAU) y las 6.1 ha de EH (16% de la SAU).

En la interpretación de estos aprovechamientos debe ser tenido en cuenta que parte de la superficie pastada en una época del año puede ser destinada a conservación en primavera-verano e, inversamente, toda o parte de la superficie de hierba conservada puede ser pacida en otras épocas del año.

Tabla 3.12.- Uso de la superficie de pastos

	Superficie de pastos				Renovación de praderas (años)
	Pastada, ha	Ensilada, ha	Hierba seca, ha	Hierba cortada verde, ha	
PE	32.7	14.9	8.6	0.0	5.5
PC	21.3	21.3	12.9	3.2	5.7
EH	0.0	31.4	6.1	0.0	4.7
EH-EM	0.0	28.5	14.1	0.0	4.2
EM	0.0	20.8	2.9	0.0	2.6
Media	12.8	24.1	9.3	0.6	4.5
s.e.m.	5.44	5.8	3.1	1.3	0.6
d.m.s	15.47	16.4	8.8	3.8	1.7
P	*	NS	*	NS	**

PE: pastoreo (ecológico); PC: pastoreo (convencional); EH: ensilaje hierba; EH-EM: ensilajes hierba y maíz; EM: ensilaje maíz; s.e.m.: error estándar de la media; d.m.s: diferencia mínima significativa entre dos medias de la misma fila ($\alpha=0.05$); P: significación del test F en el ANOVA. NS: $P>0.05$; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$

3.3.7. Disponibilidad de materia seca forrajera en la explotación

Como se indica en la Tabla 3.13, la explotación media de la muestra produce anualmente 399.4 t de MS para alimentar al ganado y compra 40.6 t MS adicionales, disponiendo de un total de 440.0 t MS, representando 3.9 t MS/UGM y 5.3 t MS/vaca lechera y su parte proporcional de recría y vacas secas. El grado medio de auto-aprovisionamiento de forrajes es elevado, ascendiendo al 90.6% de la disponibilidad total. Como es lógico, la producción de forraje en la explotación aumenta con la superficie, desde 202.6 t MS para PE, 271.0 t

MS para PC y 261.0 t MS para EH, ascendiendo a 485.6 t MS/explotación en EH-EM y a 751.8 t MS/explotación en EM. En cuanto a la disponibilidad de MS por UGM, el grupo EH dispuso de una cantidad significativamente inferior a la del resto de los grupos PC, EH-EM y EM, que no se diferenciaron entre sí, a este respecto.

Aproximadamente 2/3 de la MS total disponible en la explotación provenía de la hierba de pastos plurianuales y de cultivos de invierno (raigrás italiano, raigrás híbrido y mezclas con tréboles anuales) mientras que el 1/3 restante provenía de los cultivos de verano, prácticamente en su totalidad del cultivo de maíz. Esta proporción hierba:maíz cambia substancialmente entre grupos, siendo aproximadamente en PC y EH de 89%:11% y en PE de 81%:19% para pasar en EH-EM a 44%:56% y en EM a 28%:72%.

Tabla 3.13.- Disponibilidad de materia seca forrajera

Grupo	Forraje producido, t MS/expl.	Forraje comprado, t MS/ expl..	Disponibilidad de forraje		% MS total procedente de	
			t MS/UGM	t MS/vaca	Pastos	Cultivos
PE	202.6	20.8	3.8	4.9	88.8	11.2
PC	271.0	44.6	4.1	5.2	81.2	18.8
EH	261.0	20.8	3.6	4.8	89.1	10.9
EH-EM	485.6	33.9	4.0	5.5	44.0	56.0
EM	751.8	82.5	4.2	5.8	28.2	71.8
Media	399.4	40.6	3.9	5.3	64.9	35.1
s.e.m.	109.1	15	0.5	1	7.4	7.4
d.m.s	310.2	42.6	1.4	2.7	21	21
P	**	*	*	NS	***	***

PE: pastoreo (ecológico); PC: pastoreo (convencional); EH: ensilaje hierba; EH-EM: ensilajes hierba y maíz; EM: ensilaje maíz; s.e.m.: error estándar de la media; d.m.s: diferencia mínima significativa entre dos medias de la misma fila ($\alpha=0.05$); P: significación del test F en el ANOVA. NS: $P>0.05$; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$

Una de las características diferenciales de los diferentes sistemas de alimentación es la proporción entre el total de MS suministrada por las superficies de hierba y de maíz. Comparando las estimaciones de contribución de los pastos permanentes y la de maíz, la relación entre ambos aprovechamientos, expresada en porcentaje de la MS total fue aproximadamente de 87 a 13% para las explotaciones de pastoreo y las basadas en ensilajes de hierba, sin diferencias significativas entre ellas, de 42 a 58% para EH-EM y de 20 a 80% para EM. Si hacemos el cálculo para la producción total de hierba, incluida la de los cultivos de invierno (raigrás italiano y mezclas de tréboles con raigrás híbrido) en relación a la de maíz, las proporciones son de 87.5 a 12.4% para PE, de 85.9 a 14.0% para PC, de 92.2 a 7.7% para EH, de 54.4 y 45.5% para EH-EM y de 39.2 a 60.7% para EM

evidenciando la importancia relativa de los ensilajes de hierba y de maíz en las explotaciones, dependiendo del sistema de alimentación.

3.3.8. Conservación de forrajes

3.3.8.1. Ensilado de hierba y de maíz

En la Tabla 3.14 se muestra el porcentaje de explotaciones que ensilan solamente hierba, solamente maíz o ambos cultivos, con frecuencias de 37.2%, 5.9% y 56.9%, respectivamente, para la media de explotaciones de la muestra y, como era de esperar, esta proporción varió significativamente entre grupos. Las explotaciones que no ensilaban hierba se circunscribieron al grupo EM, representando el 30% del total. Dejando éstas aparte, la proporción entre las frecuencias de explotaciones que ensilaban sólo hierba o hierba y maíz fue de 54.5:45.5 para PE, de 70:30 para PC, de 75:25 para EH, de 0:100 para EH-EM y de 0:70 para EM, siendo de destacar que casi una de cada dos explotaciones de pastoreo ecológico cultivaba maíz.

Tabla 3.14.- Forraje conservado: frecuencia del ensilado de hierba y de maíz

Grupo	Porcentaje de explotaciones que ensilan			Usa carro mezclador (%)
	Sólo hierba	Sólo maíz	Hierba y maíz	
PE	54.5	0.0	45.5	27.3
PC	70.0	0.0	30.0	40.0
EH	75.0	0.0	25.0	100.0
EH-EM	0.0	0.0	100.0	100.0
EM	0.0	30.0	70.0	100.0
Total	37.2	5.9	56.9	70.0

Significación del test de homogeneidad (Chi-square): $P \leq 0.0001$. En las columnas con valores nulos en alguna celda, Chi-square puede no ser un test válido. PE: pastoreo (ecológico); PC: pastoreo (convencional); EH: ensilaje hierba; EH-EM: ensilajes hierba y maíz; EM: ensilaje maíz

El uso de carro mezclador es minoritario en las explotaciones de pastoreo, aunque la frecuencia de explotaciones que lo utilizan es importante (27.3% en PE y 40% en las de PC), evidenciando su integración en las tareas de mecanización de la alimentación en las explotaciones y, por consiguiente, facilitándolas durante los períodos de estabulación del ganado. En las explotaciones que basan en forrajes ensilados la alimentación de las vacas en lactación, la frecuencia de uso del carro es del 100%.

En la Tabla 3.15 se indican los valores medios por grupo respecto al número de silos de hierba y de maíz realizados por las explotaciones y su volumen total. Como media de las explotaciones de la muestra, se hacen 2.1 y 2.0 silos de hierba y de maíz, con volúmenes medios respectivos de 870 y 1021 m³/explotación y 8.3 y 9.7 m³/UGM. El número de silos

no es significativamente diferente entre grupos, a diferencia del volumen total de los silos, que se incrementa lógicamente con el tamaño de explotación.

Tabla 3.15.- Número y volumen de silos de hierba y de maíz

Grupo	Silos de hierba		Silos de maíz	
	Nº silos/explot.	Vol. total m ³	Nº silos/explot.	Vol. total m ³
PE	2.0	460	1.40	363
PC	2.3	511	2.00	505
EH	2.6	1708	1.50	774
EH-EM	1.8	892	2.00	1222
EM	2.0	1032	2.30	2217
Media	2.1	870	2.00	1021
s.e.m.	0.31	167.3	0.27	376
d.m.s	0.89	475	0.77	1068
P	NS	**	NS	*

PE: pastoreo (ecológico); PC: pastoreo (convencional); EH: ensilaje hierba; EH-EM: ensilajes hierba y maíz; EM: ensilaje maíz; s.e.m.: error estándar de la media; d.m.s: diferencia mínima significativa entre dos medias de la misma fila ($\alpha=0.05$); P: significación del test F en el ANOVA. NS: $P>0.05$; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$

3.3.8.2. Uso de aditivos en el ensilado

Un 25% de las explotaciones declaran utilizar aditivos para el ensilado de la hierba y un porcentaje algo inferior (18.6%) para el ensilado del maíz, como media de todas las explotaciones (Tabla 3.16). La frecuencia de uso parece elevada, de acuerdo con otras bases de datos, si bien estas explotaciones estaban acogidas a un sistema de asesoramiento técnico que pudo haber modificado positivamente los procedimientos rutinarios de ensilado. Ninguna de las explotaciones del grupo PE utilizan aditivos para la hierba ni para el maíz y las del grupo PC sólo declaran hacerlo (30% del total) para el ensilado de la hierba. Para los grupos EH, EH-EM y EM la utilización de aditivos es, respectivamente, del 25.0, 50.0 y 14.3% en el ensilado de hierba y del 0.0, 25.0 y 30.0 % en el ensilado del maíz.

En las explotaciones que usan aditivos en el ensilado de hierba, las sales de ácidos y las bacterias lácticas tienen una importancia aproximadamente equivalente, de media, siendo el primer tipo más usual en las explotaciones de pastoreo convencional, predominando el segundo tipo en las explotaciones de los grupos EH-EM y EM y siendo de igual importancia en EH. En el caso del ensilado del maíz, como es lógico predomina el uso de las bacterias lácticas en aquellas explotaciones de los grupos EH-EM y EM que utilizan aditivos.

Tabla 3.16.- Uso de aditivos en el ensilado de hierba y de maíz

Grupo	Ensilados de hierba			Ensilados de maíz	
	Usan aditivos (%)	Ácidos (%)	Bacterias (%)	Usan aditivos (%)	Bacterias (%)
PE	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
PC	30.0	67.0	33.0	0.0	0.0
EH	25.0	50.0	50.0	0.0	0.0
EH-EM	50.0	40.0	60.0	25.0	100.0
EM	14.3	0.0	100.0	30.0	100.0
Total	25.0	45.5	54.5	18.6	100.0

Significación del test de homogeneidad (Chi-square): $P \leq 0.05$. En las columnas con valores nulos en alguna celda, Chi-square puede no ser un test válido. PE: pastoreo (ecológico); PC: pastoreo (convencional); EH: ensilaje hierba; EH-EM: ensilajes hierba y maíz; EM: ensilaje maíz

3.3.8.3. Tipos de silos en las explotaciones

Las frecuencias de los diferentes tipos de silo utilizados en las labores de ensilado de hierba y de maíz se muestran en las Tablas 3.17 y 3.18, incluyéndose el uso del empacado en balas redondas (rotopacas) en el primer caso. En el ensilado de hierba la frecuencia media de explotaciones que declaran realizar el ensilado en rotopacas es del 62.5%, siendo más frecuente en el caso de las explotaciones de pastoreo, en particular las del grupo PE. De media, el 55.3% de las explotaciones utilizan silos tipo bunker, con paredes y suelos de obra de fábrica, siendo estas instalaciones más frecuentes en las explotaciones de mayor tamaño, que disponen de ellas en más del 70% de los casos.

Tabla 3.17.- Tipos de silos de hierba en las explotaciones

Grupo	Porcentaje de explotaciones que utilizan cada tipo de silo				
	Rotopacas	Bunker	Plataforma tierra	Trinchera	Plataforma cemento
PE	100.0	40.0	18.1	10.0	0.0
PC	70.0	40.0	50.0	10.0	0.0
EH	50.0	50.0	25.0	20.0	0.0
EH-EM	41.6	75.0	41.6	8.3	8.3
EM	42.9	71.4	14.3	14.3	0.0
Total	62.5	55.3	31.2	10.6	2.1

Significación del test de homogeneidad (Chi-square): $P \leq 0.05$. En las columnas con valores nulos en alguna celda, Chi-square puede no ser un test válido. PE: pastoreo (ecológico); PC: pastoreo (convencional); EH: ensilaje hierba; EH-EM: ensilajes hierba y maíz; EM: ensilaje maíz

El uso de silos excavados en tierra, tipo trinchera, que pueden o no estar revestidos con paredes y solera de hormigón es del 10.6% de media, con una frecuencia mayor en el grupo EH (20% de los casos) y muy semejante en el resto de los grupos. El ensilado en montón sobre tierra es realizado, de media, por el 31.2% de las explotaciones, alcanzando el 50% de los casos en PC y el 41.6% en EH-EM, siendo minoritario el ensilado en montón

sobre plataforma de hormigón, realizado únicamente por el 8.3% de las explotaciones del grupo EH-EM.

En el ensilado del maíz la frecuencia de uso de los distintos tipos de silo es relativamente homogénea entre los grupos, a juzgar por la no significación del estadístico Chi-square. El tipo de silo predominante es el tipo bunker, con una media del 78.1%, siendo mayoritario en todos los grupos menos en el PC. Le sigue el silo tipo trinchera y la formación de montón en tierra, con un valor medio idéntico (15.6%) para ambas modalidades. A este respecto, el ensilado en montón, sin paredes laterales de protección, es totalmente desaconsejable, en primer lugar por razones de seguridad en las operaciones de colocación y pisado del forraje así como por la dificultad de asegurar una adecuada densidad y hermeticidad frente a la entrada de aire en la masa ensilada durante el almacenamiento, siendo este uno de los aspectos que necesita ser mejorado en el conjunto de las explotaciones, así como la necesidad de gestionar los efluentes que se pueden producir en caso de ensilar hierba con alto contenido en humedad y que pueden provocar en ciertos casos problemas ambientales.

Tabla 3.18.- Tipos de silos de maíz en las explotaciones

Grupo	Porcentaje de explotaciones que utilizan cada tipo de silo			
	Bunker	Trinchera	Plataforma tierra	Plataforma cemento
PE	80.0	40.0	0.0	0.0
PC	33.3	33.3	33.3	0.0
EH	100.0	0.0	0.0	0.0
EH-EM	83.3	8.3	25.0	0.0
EM	80.0	10.0	10.0	0.0
Total	78.1	15.6	15.6	0.0

Significación del test de homogeneidad (Chi-square): $P\leq 0.05$. En las columnas con valores nulos en alguna celda, Chi-square puede no ser un test válido. PE: pastoreo (ecológico); PC: pastoreo (convencional); EH: ensilaje hierba; EH-EM: ensilajes hierba y maíz; EM: ensilaje maíz

3.3.9. Instalaciones

3.3.9.1. Gestión de las deyecciones animales

Algo más de la mitad de las explotaciones de la muestra (56.9%) manejan las deyecciones animales en forma de purines líquidos y el 43.1% restante los hace en forma de purines y estiércoles sólidos. Esta última es la forma mayoritaria de gestión en las explotaciones de pastoreo ecológico (72.7% de los casos), tendiendo las explotaciones de mayor dimensión a manejar mayoritariamente las excretas del ganado en forma de purín (Tabla 3.19). El número medio de fosas de purín por explotación es de 2.3, estando cubiertas en el 48.3%

de los casos, no detectándose diferencias significativas entre grupos para estos valores. La capacidad media de las fosas es de 93.8 m³/UGM, oscilando en un rango entre 6.3 m³/UGM en PC y 13.7 m³/UGM en EM. Las recomendaciones para una gestión eficaz de las deyecciones animales desde el punto de vista ambiental y de aprovechamiento de su elevado poder fertilizante indican que las fosas de purín deberían estar cubiertas y disponer de entre 10 y 14 m³ de capacidad por UGM (Castro-Insua, 2010 y MR, 2014), con lo cual observamos que una parte de las explotaciones necesitarían ampliar la capacidad (en particular para los grupos EH y EH-EM) y duplicar el número de fosas cubiertas, sobre todo en las zonas con mayor pluviometría.

Tabla 3.19.- Gestión de las deyecciones animales

	Tipo de manejo de deyecciones		Instalaciones		
	Sólo purín	Purín y estiércol	Nº fosas/explotación	% fosas cubiertas	Capacidad m ³ /UGM
PE	27.3	72.7	2.2	35.0	10.6
PC	50.0	50.0	2.5	48.3	6.3
EH	75.0	25.0	2.1	64.2	9.2
EH-EM	75.0	25.0	2.2	34.7	7.8
EM	60.0	40.0	2.5	66.7	13.7
Total	56.9	43.1	2.3	48.3	9.8
<i>test Chi-square (P§>0.05)</i>					
<i>P</i>			<i>NS</i>	<i>NS</i>	<i>**</i>
<i>s.e.m.</i>	-	-	<i>0.40</i>	<i>13.95</i>	<i>1.46</i>
<i>d.m.s</i>	-	-	<i>1.13</i>	<i>39.64</i>	<i>4.15</i>

PE: pastoreo (ecológico); PC: pastoreo (convencional); EH: ensilaje hierba; EH-EM: ensilajes hierba y maíz; EM: ensilaje maíz; s.e.m.: error estándar de la media; d.m.s: diferencia mínima significativa entre dos medias de la misma fila ($\alpha=0.05$); *P*: significación del test F en el ANOVA. *NS*: $P>0.05$; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$. En las columnas con valores nulos en alguna celda, Chi-square puede no ser un test válido

3.3.9.2. Estabulación y sala de ordeño

El tipo de estabulación predominante es el establo libre, con el 88.2% de media de toda la muestra, siendo del 100% en las explotaciones que alimentan a las vacas en lactación con raciones completas. Se destaca que una de las explotaciones de pastoreo ecológico y dos de pastoreo convencional no tenían establo, siendo este substituido por una simple instalación cubierta mantenida por una estructura abierta para alimentar el ganado con forraje conservado y concentrado. De media el número de puntos de la sala de ordeño era de 10.6, oscilando entre 7.6 para las explotaciones de pastoreo y 15.6 para las del grupo EM. El número medio de tanques de frío por explotación era de 1.1, sin diferencias entre grupos. Como es lógico, su capacidad aumenta con el tamaño de la explotación, desde los 2.2 m³ de media en el grupo PE a 9.4 m³ en el grupo EM. La capacidad teórica de almacenamiento

de leche en la explotación media, estimándose recogida en días alternos por la industria, estaría un 38% por encima de su producción anual, oscilando entre el 20% del grupo EM al 100% del PE (Tabla 3.20 y Tabla 3.3).

Tabla 3.20.- Tipo de establo, sala de ordeño y tanque de frío de la leche

	Tipo de estabulación			Sala de ordeño y tanque de frío		
	Libre	Trabada	Sin establo	Nº puntos	Nº tanques	L total
PE	72.7	19.1	10.0	7.6	1.2	2225
PC	70.0	10.0	20.0	7.6	1.1	3146
EH	100.0	0.0	0.0	10.0	1.1	3600
EH-EM	100.0	0.0	0.0	12.2	1.2	7042
EM	100.0	0.0	0.0	15.6	1.1	9480
Media	88.2	5.9	5.9	10.6	1.1	5177
<i>test Chi-square ($P \leq 0.05$)</i>						
<i>P</i>				*	NS	**
<i>s.e.m.</i>	-	-	-	1.76	0.11	1359
<i>d.m.s</i>	-	-	-	5.00	0.32	3862

PE: pastoreo (ecológico); PC: pastoreo (convencional); EH: ensilaje hierba; EH-EM: ensilajes hierba y maíz; EM: ensilaje maíz; s.e.m.: error estándar de la media; d.m.s: diferencia mínima significativa entre dos medias de la misma fila ($\alpha=0.05$); *P*: significación del test F en el ANOVA. NS: $P>0.05$; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$. En las columnas con valores nulos en alguna celda, Chi-square puede no ser un test válido

3.3.10. Titularidad de la explotación

3.3.10.1. Personalidad jurídica

Como se puede observar en la Tabla 3.21, el porcentaje de explotaciones de cada grupo en el que la titularidad la ostenta una persona física es superior en las granjas que realizan pastoreo (alrededor del 90% de los casos) comparada con las de mayor dimensión, en particular las del grupo EM, donde este porcentaje cae hasta el 40%, predominando la titularidad asociativa. En los grupos EH y EH-EM todavía predomina, de media, la titularidad de persona física, con valores del 62.5 y del 66.6%, respectivamente.

Tabla 3.21.- Forma jurídica de titularidad de la explotación

Grupo	Personalidad jurídica (% en cada grupo)	
	Persona física	Persona jurídica (SAT)
PE	90.9	9.1
PC	90.0	10.0
EH	62.5	37.5
EH-EM	66.6	33.3
EM	40.0	60.0
Total	70.5	29.4

Significación del test de homogeneidad (Chi-square): $P \leq 0.001$. PE: pastoreo (ecológico); PC: pastoreo (convencional); EH: ensilaje hierba; EH-EM: ensilajes hierba y maíz; EM: ensilaje maíz

3.3.10.2. Edad y formación de la persona titular

La edad media de la persona titular de la explotación es de 47.2 años, sin diferencias significativas entre grupos, oscilando entre los 44.6 años del grupo EH y los 51.5 del grupo EH-EM (Tabla 3.22). Tampoco hubo diferencias entre grupos en cuanto a la distribución de frecuencias del tipo de estudios alcanzados por la persona titular, teniendo de media el 33.9% estudios primarios, el 20.1% formación profesional, el 22.5% estudios de bachillerato y el 23.5% estudios universitarios, siendo de resaltar que la proporción más elevada de personas tituladas universitarias se registró en el grupo de pastoreo ecológico con el 45.4% de los casos.

Tabla 3.22.- Edad y formación de la persona titular de la explotación

Grupo	Edad (años)	Formación (% de explotaciones)			
		Estudios Primarios	Formación Profesional	Estudios Bachillerato	Estudios Universitarios
PE	44.7	27.3	9.1	18.2	45.4
PC	47.5	45.0	27.5	15.0	12.5
EH	44.6	50.0	25.0	12.5	12.5
EH-EM	51.5	25.0	16.7	33.3	25.0
EM	46.3	22.2	22.2	33.3	22.2
Total	47.2	33.9	20.1	22.5	23.5
<i>test Chi-square ($P \geq 0.05$)</i>					
<i>P</i>	<i>NS</i>				
<i>s.e.m.</i>	2.08	-	-	-	-
<i>d.m.s</i>	5.90	-	-	-	-

PE: pastoreo (ecológico); PC: pastoreo (convencional); EH: ensilaje hierba; EH-EM: ensilajes hierba y maíz; EM: ensilaje maíz; s.e.m.: error estándar de la media; d.m.s: diferencia mínima significativa entre dos medias de la misma fila ($\alpha=0.05$); *P*: significación del test F en el ANOVA. *NS*: $P>0.05$; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$

3.3.10.3. Opinión acerca de la desaparición de la cuota láctea y cambios previstos en la explotación

Cuando se realizó la entrevista a las personas titulares de las explotaciones había transcurrido un año ya, de media, desde la desaparición de la cuota láctea. Preguntados por la opinión acerca de su previsible efecto sobre el futuro de sus granjas lecheras, el 70.6 % opinaron que sería negativo, el 11.7% que sería neutro y únicamente el 7.8% creía que su efecto sería positivo (Tabla 3.23). Es interesante resaltar que es el grupo de explotaciones de pastoreo ecológico el que tiene una visión más favorable (o menos negativa) acerca del efecto de la liberalización de la producción láctea, quizás influenciados por los buenos precios de la leche ecológica en estos momentos. En el extremo contrario, las

explotaciones más intensivas, basadas en el consumo de ensilajes de hierba y/o maíz, mostraron mayoritariamente una opinión negativa a la desaparición de la cuota láctea.

Tabla 3.23.- Opinión acerca del efecto de la desaparición de la cuota láctea

Grupo	Porcentaje de explotaciones que facilitaron una respuesta concreta		
	Negativo	Positivo	Neutro
PE	45.5	27.3	18.2
PC	50.0	0.0	30.0
EH	100.0	0.0	0.0
EH-EM	75.0	8.3	8.3
EM	90.0	0.0	0.0
Total	70.6	7.8	11.7

Significación del test de homogeneidad (Chi-square): $P \geq 0.05$. En las columnas con valores nulos en alguna celda, Chi-square puede no ser un test válido. PE: pastoreo (ecológico); PC: pastoreo (convencional); EH: ensilaje hierba; EH-EM: ensilajes hierba y maíz; EM: ensilaje maíz

En la Tabla 3.24 se recogen las opiniones de las personas titulares de las explotaciones acerca de los cambios que tenían previsto introducir para asegurar el futuro de la producción de leche en su granja. Una de cada cinco explotaciones respondió que no precisaba hacer ningún cambio, mostrándose así conforme con su situación actual.

Tabla 3.24.- Cambios a introducir en la explotación para afrontar el futuro

Grupo	Porcentaje de explotaciones con respuestas concretas					Total
	PE	PC	EH	EH-EM	EM	
Mejorar manejo	54.5	40.0	50.0	66.7	50.0	52.9
Ampliar SAU	36.3	60.0	50.0	41.7	20.0	41.1
Seguir igual	27.3	30.0	12.5	8.3	30.0	21.6
Disminuir producción	18.2	10.0	25.0	16.6	20.0	17.6
Reducir vacas	9.1	20.0	37.5	8.3	20.0	17.6
Aumentar producción	9.0	0.0	0.0	33.3	10.0	11.8
Pasar a ecológico	0.0	20.0	12.5	16.7	0.0	9.8
Vacas más productivas	0.0	0.0	12.5	8.3	20.0	7.8
Aumentar vacas	18.2	10.0	0.0	8.3	0.0	7.8
Aumentar pastoreo	0.0	10.0	12.5	8.3	0.0	5.9
Cambiar raza	9.1	10.0	0.0	0.0	10.0	5.9
Elaborar lácteos	18.2	0.0	0.0	0.0	0.0	3.9

Significación del test de homogeneidad (Chi-square): $P \geq 0.05$. En las columnas con valores nulos en alguna celda, Chi-square puede no ser un test válido. PE: pastoreo (ecológico); PC: pastoreo (convencional); EH: ensilaje hierba; EH-EM: ensilajes hierba y maíz; EM: ensilaje maíz

De entre las respuestas de los que propusieron algún cambio concreto, la necesidad de mejorar el manejo de la explotación fue la respuesta con una frecuencia más alta (52.9%) en prácticamente todos los grupos. A continuación, con el 41.1% figuraba la intención de ampliar la base forrajera de la explotación, que en el caso del grupo de pastoreo convencional fue la respuesta mayoritaria. La intención de disminuir la producción y de

reducir el número de vacas fue mencionada en el 17.6% de los casos, mientras que un 11.8% de las personas entrevistadas tenía en mente aumentar la producción, para lo cual un 7.8% aumentaría el número de vacas o introduciría vacas más productivas. El 9.8% de las explotaciones indicó que sopesaba su conversión a la producción ecológica, oscilando la frecuencia de esta respuesta entre el 20.0% de PC, el 12.5% de EH y el 16.7% de EH-EM, sin que ninguna explotación del grupo EM, más intensivo, manifestase esta intención. Otras respuestas minoritarias fueron las de incrementar el pastoreo del rebaño lechero (5.9%), introducir cambios en la raza de las vacas (5.9%) y pasar a elaborar productos lácteos, opción que indicó el 18.2% de las explotaciones ecológicas.

3.3.10.4. Continuidad en las explotaciones

Como se indica en la Tabla 3.25, el 92.1% de las explotaciones entrevistadas manifestaron su intención de continuar con su actividad, siendo esta la respuesta del 100% de los casos para los grupos PE, PC y EH. En las explotaciones del grupo EH-EM la persona titular de una de ellas manifestó dudas sobre su continuidad al frente de la explotación, al igual que en tres de las del grupo EH-EM. Para las 14 explotaciones en las cuales la persona titular tenía más de 55 años o tenía previsto abandonar la producción de leche, a la pregunta de si tenían la sucesión asegurada contestaron afirmativamente 7, negativamente 5 y dos no lo sabían con seguridad. Se destaca que todas las personas titulares de las explotaciones que manifestaron intención de abandonar en el grupo EM indicaron tener sucesión.

Tabla 3.25.- Continuidad en la actividad de producción de leche de vacuno y existencia de sucesor

Grupo	Total explotaciones	Intención de continuar		Titular >55 o tiene previsto abandonar			
		n	%	Total	Si sucesor	No sucesor	No sabe
PE	11	11	100	3	67%	0%	33%
PC	10	10	100	1	0%	100%	0%
EH	8	8	100	2	0%	100%	0%
EH-EM	12	11	91.7	5	40%	40%	20%
EM	10	7	70.0	3	100%	0%	0%
Total	51	47	92.1	14	50%	36%	14%
P§	-	-	*	-	-	-	-

P§: Significación del test de homogeneidad (Chi-square). En las columnas con valores nulos en alguna celda, Chi-square puede no ser un test válido. PE: pastoreo (ecológico); PC: pastoreo (convencional); EH: ensilaje hierba; EH-EM: ensilajes hierba y maíz; EM: ensilaje maíz

3.3.10.5. Destino probable de las tierras en caso de abandonar la actividad agraria

Para las explotaciones que tenían previsto cesar su actividad en la agricultura, el destino preferente de la tierra era el arrendamiento en el 83.3% de los casos. La cesión de las

tierras era una opción a considerar para el 16.7% de las personas titulares, y la de ceder o arrendar la del 33.3% (Tabla 3.26). La opción de forestar las tierras (16.7%) estaba ligada como alternativa al arrendamiento y no figuraba como primera opción en ninguna de las respuestas, lo cual parece poner de manifiesto la sensibilidad de las personas titulares de explotaciones hacia el problema de la disponibilidad de tierras para la continuación de la actividad agraria en otras granjas cuando se prevé cesar en la propia por motivos de inviabilidad económica y/o demográfica.

Tabla 3.26.- Destino probable de las tierras en las explotaciones que tienen previsto cesar su actividad en la agricultura

Grupo	Arrendar	Arrendar o ceder	Arrendar o forestar	Ceder
PE	0.0	0.0	0.0	0.0
PC	100.0	0.0	0.0	0.0
EH	50.0	0.0	0.0	50.0
EH-EM	0.0	66.7	33.3	0.0
EM	0.0	0.0	0.0	0.0
Total	33.3	33.3	16.7	16.7

Significación del test de homogeneidad (Chi-square) $P > 0.05$. En las columnas con valores nulos en alguna celda, Chi-square puede no ser un test válido. PE: pastoreo (ecológico); PC: pastoreo (convencional); EH: ensilaje hierba; EH-EM: ensilajes hierba y maíz; EM: ensilaje maíz

3.4. DISCUSIÓN

3.4.1. Evolución de la estructura productiva de las explotaciones gallegas

Existe poca información sobre el manejo de los medios de producción en las explotaciones de leche de Galicia, gran parte de ella producida en el transcurso de proyectos de investigación realizados en el Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo y en la USC. Referido a los datos de una amplia encuesta realizada sobre una muestra de 1320 explotaciones de Galicia en el 1996, Flores *et al.* (2003) analizan el alcance de la concentración parcelaria en las explotaciones lecheras gallegas y su efecto sobre la estructura y de los sistemas de producción de las explotaciones. Fruto de otra encuesta realizada en 2006 a 478 explotaciones lecheras gallegas Fernández-Lorenzo *et al.* (2009) analizan los cambios experimentados en el sistema de producción de las explotaciones de leche de Galicia, entre 1996 y 2006, tratando de identificar las fortalezas y debilidades de la producción de cara al futuro. Sineiro *et al.* (2012) realizan una interesante descripción de la situación de los principales parámetros de estructura de las explotaciones lecheras gallegas y su variación en las últimas tres décadas, así como los cambios previstos en las explotaciones de cara a la desaparición del sistema de cuotas lácteas. Los trabajos oficiales como los de Barbeyto y López Garrido (2009, 2010, 2013) describen los resultados económicos de las explotaciones acogidas a los programas de gestión y su evolución desde 1998 hasta 2011, habiendo dejado de publicarse desde el año 2013 y privando al sector de una importante información sobre los índices técnicos y económicos de las explotaciones lecheras gallegas. Más recientemente, en el transcurso de un proyecto de investigación realizado en coordinación con los centros de investigación autonómicos de Galicia, Asturias, Cantabria, País Vasco y Navarra (Flores *et al.*, 2017) se describen por vez primera los sistemas de alimentación predominantes en las explotaciones lecheras de la zona húmeda de España y se comparan las características estructurales de las explotaciones de vacuno lechero de las citadas Comunidades Autónomas, en base a una encuesta realizada en el año 2014 a 447 explotaciones, de las cuales 316 eran gallegas.

Utilizando esta información, en la Tabla 3.27 se resumen los principales índices sobre la estructura de las explotaciones, que permite apreciar su evolución en el espacio temporal 1996-2014. En primer lugar se destaca el hecho de que las explotaciones gallegas se reducen casi a la quinta parte, pasando de 47.0 mil a 10.3 mil, produciéndose un 45% más de leche, con un total de 2.6 millones de toneladas en 2014.

La superficie forrajera media por explotación se multiplica por un factor de 2.3, pasando de 8.7 ha a 20.7 ha y la proporción de pastos plurianuales se reduce desde el 95% de la SAU en 1996 al 71% en 2014, mientras que la de cultivos forrajeros (maíz en casi su totalidad) se incrementa desde el 16% a casi el 30% de la SAU, evidenciando el proceso de intensificación forrajera en las explotaciones con una mayor presencia del maíz forrajero para ensilar en detrimento de la hierba, que pese a todo sigue siendo el principal forraje, de media, en las explotaciones.

Tabla 3.27.- Evolución en la estructura de las explotaciones lecheras gallegas en base a los resultados de las sucesivas encuestas

Año de referencia	1996 ⁽¹⁾	2006 ⁽²⁾	2009 ⁽³⁾	2014 ⁽⁴⁾
n	1320	478	317	316
Total Galicia				
Nº explotaciones (x 1000)	47.0	16.3	13.5	10.3
Producción de leche (x 10 ⁶ t)	1.8	2.2	2.6	2.6
Valores medios por explotación				
Superficie Agraria Útil				
SAU (ha)	8.7	13.5	18.8	20.7
Propiedad (% SAU)	95%	96%	95%	70.6%
Pastos plurianuales				
Superficie de pastos (ha)	7.3	10.5	13.9	14.7
Ocupación de la SAU (%)	84%	78%	74%	71%
Cultivos forrajeros				
Superficie de cultivos (ha)	1.4	3.0	4.9	6.0
Ocupación de la SAU (%)	16%	22%	26%	29%
Tamaño de rebaño				
Vacas de leche (nº)	9.9	20.4	29.2	29.4
Producción de leche				
Producción (x 1000 L/explotación)	43	123	192.3	213.5
Producción (L/vaca)	4070	5400	6586	7262
Trabajo en la explotación				
UTA total/explotación	1.85	1.91	1.90	2.15
UTA familiar (% UTA total)	95%	96%	95%	93%
Intensificación				
Leche/ha SAU (L)	4943	9111	10229	10314
Productividad del trabajo				
Leche/UTA total (L)	23243	64398	101211	99302

Referencias: ⁽¹⁾ Flores *et al.* (2003); ⁽²⁾ Fernández-Lorenzo *et al.* (2006); ⁽³⁾ Sineiro *et al.* (2012);

⁽⁴⁾ Flores *et al.* (2017)

n: nº de explotaciones entrevistadas en cada encuesta

En paralelo con el incremento de la superficie, el rebaño lechero aumenta en mayor proporción que ésta, desde 9.9 a 29.4 vacas, multiplicando casi por tres el número de vacas que había por explotación en 1996. Este factor, conjuntamente con el aumento de la producción unitaria, que pasa de 4070 a 7262 L/vaca, permiten multiplicar la producción

de leche de la explotación por un factor de prácticamente cinco, desde los 43 mil L del año 1996 a los 213 mil L de 2014.

La productividad del trabajo se ve, por tanto, notablemente incrementada, pasando de 23 mil a casi 100 mil L de leche/UTA, mientras que la producción de leche por ha de superficie forrajera se duplica, pasando de casi 5 mil L en 1996 a 10 mil L/ha SAU en 2014.

3.4.2. Comparación de valores medios de las características estructurales básicas de las explotaciones lecheras de Galicia, España y la UE-15

Recientemente, la Comisión Europea publicó un estudio sobre estructura y costes de producción de explotaciones europeas (EC, 2018) en base a datos de FADN del año 2016. A pesar de que en esta información se excluyen las explotaciones de menor tamaño (de menos de 15 vacas en el caso de Galicia) sus resultados son de interés para comparar los rasgos básicos de la estructura productiva de las explotaciones lecheras a escala autonómica, estatal y de la Unión (Tabla 3.28). Según esta fuente, la explotación media de España contaba con 59 vacas lecheras (UGM), disponía de un área forrajera de 25 ha, con el 46% alquilada y contaba con 1.93 UTA/explotación (77% familiar), teniendo una producción de 451 mil kg de leche por explotación y 7684 kg/vaca. Manejaban, de media, 30.5 vacas lecheras/UTA y la productividad media de la mano de obra era de 233.6 mil kg de leche/UTA. La producción de leche por ha forrajera ascendía, de media, a 18.0 mil kg/ha. En el citado informe no están incluidas las explotaciones de menos de 15 vacas para Galicia, con lo que la representatividad de los valores se circunscribe a las unidades de producción.

La explotación media de Galicia, según este informe, tendría 44 vacas de leche (UGM), unas 23 ha de área forrajera, de la que un 24% estaría alquilada, disponiendo de 1.61 UTA (86% familiar), con una producción de 357 mil kg/explotación y una productividad aparente/vaca de 8124 kg de leche. Cada UTA manejaría, de media, 27.3 vacas y le correspondería una producción de 221.7 mil kg de leche, siendo la productividad por ha de SAU forrajera de 15.5 mil kg de leche. Comparando estos valores con los medios para España, la producción de leche/UTA sería muy semejante, apenas un 5% inferior para las explotaciones gallegas y la productividad de leche por hectárea forrajera sería un 15% inferior en el caso de Galicia, indicando un modelo de producción comparativamente

menos intensivo, a pesar de la mayor producción media por vaca de las explotaciones gallegas.

Tabla 3.28.- Comparación de datos básicos de estructura productiva para las explotaciones lecheras de Galicia, España, UE-28 y UE-15

	Valores medios referidos al año 2016			
	Galicia	España	UE-28	UE-15 [§]
Tamaño de rebaño				
Vacas de leche (UGM/explot)	44	59	33	70.9
Producción de leche				
Producción de leche (t/explotación)	357	451	233	487
Producción aparente (kg/vaca)	8124	7684	7021	7684
Superficie forrajera				
SAU forrajera, ha	23	25	30	60.2
SAU forrajera alquilada (%)	24%	46%	59%	50%
Trabajo en la explotación				
UTA/explotación	1.61	1.93	2	2.03
Trabajo familiar (% UTA)	86%	77%	83%	79%
Intensificación				
t leche/ha SAU forrajera	14.9	16.5	8.4	9.9
Vacas de leche/SAU forrajera (UGM/ha)	1.91	2.36	1.10	1.18
Productividad de la mano de obra				
Producción de leche/UTA	221.7	233.7	116.5	239.9
Vacas de leche/UTA	27.3	30.6	16.5	34.9

§ Datos de Grecia no incluidos

Fuente: EU dairy farms report based on 2016 FADN data (European Commission, 2018)

Comparadas con la media de la UE-15, las explotaciones gallegas tienen un tamaño de rebaño un 62% más pequeño y disponen de una superficie forrajera mucho más reducida, siendo un 38% inferior a la de sus homólogas europeas, que cuentan con 71 vacas de leche/explotación y 60.2 ha de SAU forrajera. En consecuencia, la carga ganadera, expresada como UGM de vacas lecheras/ha de superficie forrajera, es un 62% más alta en las explotaciones gallegas comparadas con la media de UE-15 (1.18 UGM/ha). La producción media de leche de las vacas de Galicia es algo superior a la media de las explotaciones de la muestra europeas (7690 kg /vaca), lo que indica un alto nivel genético de las explotaciones gallegas, que no se ve acompañado por una adecuada disponibilidad de superficie forrajera en medida comparable con las explotaciones europeas de nuestro entorno. El dato de que el porcentaje de superficie forrajera disponible en régimen de alquiler por las explotaciones gallegas (24%) sea aproximadamente la mitad del valor medio español (46%) y europeo (50%) parece evidenciar que la dificultad de acceder al uso de superficie en las explotaciones gallegas, al menos por esta vía, es una característica distintiva de las explotaciones de Galicia. Tomando el dato de producción de leche por ha

de superficie forrajera como indicativo de la intensificación de la explotación, las granjas lecheras de la UE-15, con 9.9 mil kg/ha, tienen de media un 34% menos de producción por unidad de superficie comparadas con las gallegas y un 40% menos comparadas con la media de las españolas. La productividad de la mano de obra de las explotaciones de Galicia sería algo inferior, pero comparable con la media de las explotaciones de la UE-15 (239 mil kg de leche/UTA), en base fundamentalmente a la menor carga de trabajo en las explotaciones gallegas, casi un 20% inferior comparada con la media de las europeas (2.0 UTA/explotación). En resumen, las explotaciones gallegas de leche de la muestra son más pequeñas, particularmente en superficie forrajera, con vacas más productivas y más intensivas que las explotaciones de la UE-15.

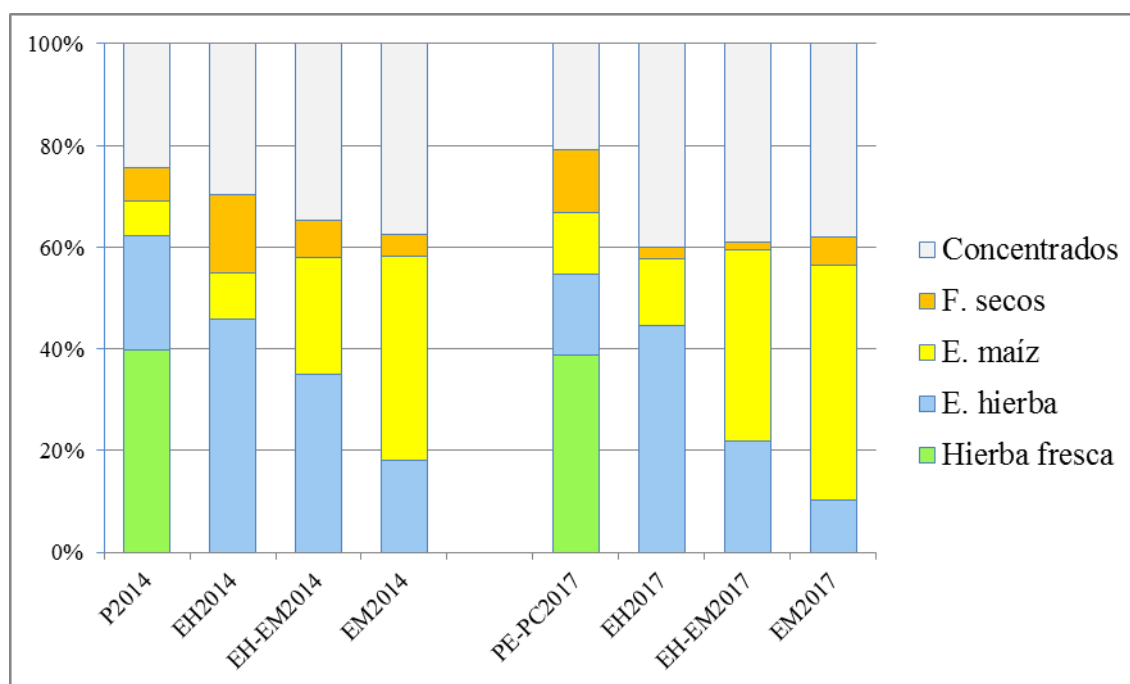
3.4.3. Explotaciones de pastoreo y explotaciones que alimentan con raciones completas mezcladas en carro: comparación de resultados con la encuesta del año 2014

La información contenida en la encuesta realizada en el año 2014 nos permite establecer comparaciones con los resultados obtenidos en las entrevistas realizadas para la presente tesis. Para ello se han agrupado los principales datos que definen la estructura y el manejo general del sistema de producción de aquella encuesta para las explotaciones encuadradas en las dietas típicas que tenían como forraje principal la hierba fresca, el ensilaje de hierba, el ensilaje de maíz o ambos ensilajes en una proporción similar y los resultados se han proyectado al total de las explotaciones de Galicia en aquel momento utilizando el factor de ponderación asociado a cada explotación en el análisis de la encuesta.

En la Figura 3.1 se muestra la composición de las dietas típicas consumidas por las vacas de leche en la encuesta del año 2014 y las de los grupos de las explotaciones entrevistadas en 2017, habiendo promediado los valores correspondientes a las proporciones de los distintos alimentos de los grupos PE y PC. Como puede verse, las proporciones de los distintos alimentos que conforman las dietas de pastoreo P2014 y PE-PC2017, las basadas en ensilaje de hierba EH2014 y EH2017, en ensilajes de hierba y maíz EH-EM2014 y EH-EM2017 y en ensilaje de maíz EM2014 y EM2017 son comparables, manteniéndose la gradación en los consumos de los principales forrajes y en el concentrados, con las salvedades de que en el año 2017 la proporción de concentrados en las dietas basada en ensilajes fue muy parecido, mientras que en 2014 la proporción fue algo inferior sobre

todo para EH y que en la composición de la dieta EH-EM en 2014 predominaba el ensilaje de hierba mientras que en 2017 predominaba el ensilaje de maíz.

Figura 3.1.- Comparación de las proporciones (en %MS) de ingredientes en las dietas típicas de la encuesta de 2014 y de los grupos de las explotaciones entrevistadas en 2017



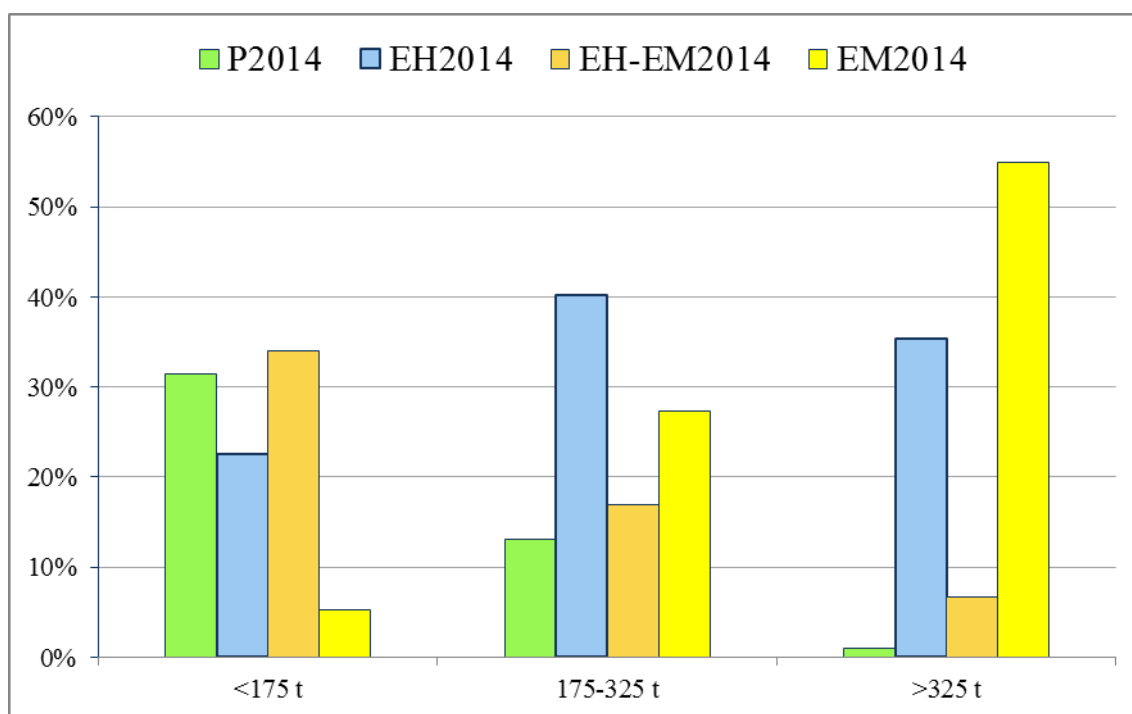
3.4.4. Importancia cuantitativa de los distintos tipos de dieta

3.4.4.1. Proporción de explotaciones en cada tipo de dieta

En base a los datos de la encuesta de 2014 se puede estimar que, en aquel momento, la distribución del total de explotaciones era del 22.6% para P2014, del 28.3% para EH2014, del 25.9% para EH-EM2014 y del 18.2% para EM2014, siendo el resto (4.8%) explotaciones que basaban la alimentación en forrajes secos, no representadas debido a su escasa importancia en la encuesta realizada en 2017. En la Figura 3.2 se representa la frecuencia de explotaciones que siguen cada tipo de dieta agrupadas en tres grupos de tamaño definidos por la producción de leche de la explotación (pequeñas: <175 t, medianas: de 175 a 325 t y grandes: >325 t). Como puede verse, en el grupo de las más pequeñas, las explotaciones que siguen la dieta basada en ensilajes de hierba y de maíz son mayoritarias (34%) seguidas de las que realizan pastoreo (31.5%). En las medianas, el tipo de dieta predominante es la basada en ensilaje de hierba (40.2%) seguidas de las que utilizan ensilaje de maíz mayoritariamente (27.3%) y en las grandes, la tipología de

alimentación predominante es la basada en ensilajes de maíz (55%), seguida de la basada en ensilajes de hierba (35.4%).

Figura 3.2.- Porcentaje de explotaciones de cada tipo de dieta, sobre el total de explotaciones de la encuesta de 2014



3.4.4.2. Comparación de datos de estructura por tipología de dieta en las encuestas de 2014 y 2017

Como se indicó anteriormente, la selección de explotaciones entrevistadas en 2017 se hizo según el tipo de alimentación para representar las mismas tipologías detectadas en la encuesta de 2014 e incluyendo el sistema de producción ecológica en el estudio. El tamaño medio de las explotaciones en cada grupo de 2017 fue superior al de sus homólogas de la encuesta de 2014, si bien las tendencias fueron comparables en cuanto a una superior intensificación productiva, explotaciones de mayor tamaño, vacas más productivas y una mayor productividad de la mano de obra en los sistemas de alimentación basados en el consumo de ensilajes, con vacas estabuladas alimentadas con raciones completas.

Los valores medios de superficie forrajera de la explotación, tamaño de rebaño, producción de leche total y por vaca y productividad de la mano de obra fueron, para 2014 y 2017, de 20.7 vs. 47.9 ha de SAU, de 29.4 vs. 77.2 vacas/explotación, de 213.5 vs. 685.0 kg de

leche/explotación, de 7204 vs. 8109 kg de leche/vaca y de 96.2 vs. 212.3 mil kg/UTA. La proyección de los resultados de la encuesta de 2014 permitieron estimar que las explotaciones de pastoreo, con el 12.3% del total de las vacas de leche y ocupando el 16% de la SAU de las explotaciones de leche, producían el 9.5% del total de la leche de Galicia, mientras que para los restantes grupos (EH2014, EH-EM2014 y EM2014), la proporción del total de vacas era del 16.8, 33.4 y 34.2% de la cabaña lechera, la SAU utilizada era del 16, 22, 31 y 27% del total y la producción aportada era del 13.4, 32.5 y 41.7% del total de leche.

Existen diferencias también en cuanto al régimen de tenencia de la tierra entre los datos de 2014 y los de la última encuesta. Mientras que en el primer caso el porcentaje de SAU utilizada en propiedad, en arrendamiento y en cesión era, respectivamente, del 70.6, 18.5 y 10.9 % del total, en 2017 los valores respectivos de la muestra fueron del 45.8, 34.6 y 19.5% de la SAU total, con un mayor peso del arrendamiento. En ambas encuestas, las frecuencias de las formas de tenencia dentro de los grupos de las diferentes dietas fueron semejantes. El aumento de superficie forrajera de las explotaciones (con una frecuencia del 62% en 2014 y del 84% en 2017) fue realizado mayoritariamente por arrendamiento en ambos casos, con una frecuencia del 76% y del 81% en ambos años.

La ocupación de la SAU con cultivos forrajeros fue, de media, algo superior en la encuesta de 2017, con valores del 67.2% para los pastos plurianuales y del 31.8% para los cultivos, comparados con el 75% y 25%, respectivamente, para las explotaciones de la encuesta de 2014. El incremento comparativo de la superficie de cultivo de maíz en detrimento de las superficies de hierba se notó especialmente en las explotaciones de mayor dimensión. Los datos sobre los tipos de rotaciones forrajeras predominantes en las explotaciones fueron muy parecidos en las encuestas de 2014 y 2017, con algo más del 50% de las explotaciones, de media, que practican la rotación maíz-raigrás italiano, con la salvedad de que las explotaciones ecológicas que siembran maíz realizan mayoritariamente la rotación maíz-pradera. Por otra parte, en 2017 una parte relevante de las explotaciones manifestaron utilizar las mezclas de tréboles anuales con raigrás híbrido como cultivo de invierno en lugar del raigrás italiano, siendo esta opción muy minoritaria en 2014. El continuo contacto del agente de asesoramiento de las explotaciones de la muestra con el CIAM y el conocimiento de los resultados de las investigaciones allí desarrolladas puede estar relacionado con el incremento del uso de estas fórmulas forrajeras en las explotaciones. La

existencia de este mecanismo de transferencia podría explicar también, al menos parcialmente, el incremento del uso de aditivos en los ensilados de hierba y de maíz, cuya frecuencia declarada de uso era, respectivamente, del 4% y 6% en la encuesta de 2014 y del 25 y 18.6% en la muestra de explotaciones de 2017.

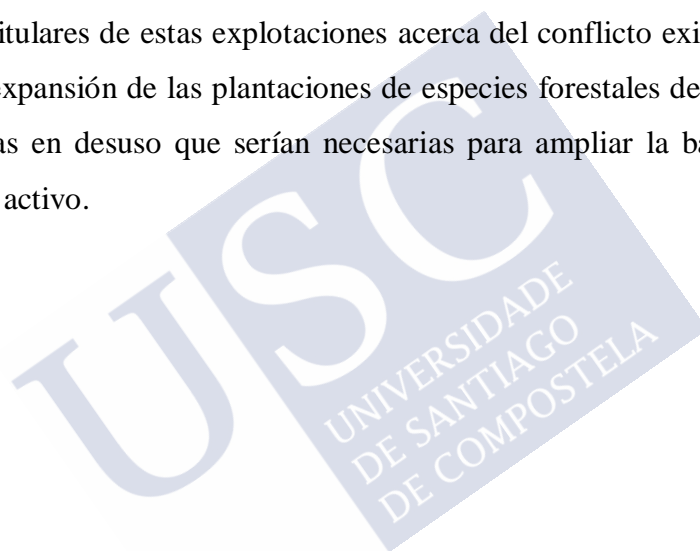
La edad media de la persona titular era de 50.8 años en 2014, mientras que en la muestra de explotaciones de 2017 la media se reducía en 3.5 años, siendo particularmente más baja en las explotaciones ecológicas, con 10 años menos que la media de las explotaciones de pastoreo en 2014 (55.4 años), que fue la más elevada de los grupos en dicha encuesta. Esta circunstancia, unida al hecho de que la proporción de titulados universitarios en las explotaciones ecológicas de la muestra de 2017 es muy alta (45.4%) parece reflejar el atractivo de la producción ecológica para las nuevas generaciones de productores lácteos, al amparo de la buena situación de mercado actual para los productos “eco” que traslada una presión al alza sobre los precios pagados al productor.

La intención de continuidad en el sector en la encuesta de 2014 era del 70%, pero solamente alcanzaba el 53% en las explotaciones de pastoreo mientras llegaba al 80% en las del grupo EH-EM2014 y subía 91% en las del grupo EM2014. Comparados con estos resultados la media de la intención de continuidad en 2017 es del 92.1%. Se destaca el hecho de que en la encuesta de este año la intención de continuar en las explotaciones más intensivas (70% en EM y 91.7% en EH-EM) es menor que en las de pastoreo y las basadas en ensilaje de hierba, pudiendo reflejar una mayor estabilidad en las explotaciones con sistemas de manejo menos intensivos, aunque sin duda existen otras variables desconocidas que influyen en esta intención.

En cuanto a los cambios a introducir en la explotación para garantizar su continuidad, en la encuesta de 2014 se traslucía una mayor indecisión, siendo la opción mayoritaria (50% de media) la de seguir sin ninguna modificación, opción que se reduce al 21% en la muestra de 2017. La ampliación de la base territorial era una opción minoritaria en 2014 mientras que actualmente se reconoce como una necesidad por el 41% de las personas titulares. Por otra parte, el aumento de producción era una opción escogida por el 25% de las personas entrevistadas en 2014 (46% en las explotaciones más intensivas) mientras que en la muestra más reciente su frecuencia es de menos del 12% y tan solo del 10% en las explotaciones basadas en el ensilaje de maíz. Esto es probablemente debido a la mayor dimensión de las explotaciones de la muestra de 2017, sin descartar que se pudiera estar

produciendo un cambio de actitud hacia un menor crecimiento y una mayor atención a la mejora del manejo manteniendo el tamaño actual. Esta opción, con casi el 53% de frecuencia, es mayoritaria en las respuestas de las explotaciones en la reciente muestra, siendo del 32% en la de 2014.

Al igual que sucede en el muestreo más reciente, la opción preferida para el destino de las tierras en el caso de tener previsto el abandono de la actividad agraria en la encuesta de 2014 fue la del arrendamiento de las tierras. La forestación fue, en ambas encuestas, una opción minoritaria respecto a otras alternativas. En la entrevista realizada en 2017 esta posibilidad no fue señalada por ninguna de las explotaciones de pastoreo ni de las del grupo más intensivo basado en ensilaje de maíz. Esto podría reflejar la mayor sensibilidad de las personas titulares de estas explotaciones acerca del conflicto existente por el uso de la tierra ante la expansión de las plantaciones de especies forestales de crecimiento rápido en tierras agrarias en desuso que serían necesarias para ampliar la base forrajera de las explotaciones en activo.



3.5. CONCLUSIONES

El trabajo realizado ha permitido describir las características de estructura, dedicación de la SAU, cultivos forrajeros, instalaciones y perspectivas de futuro de una muestra de explotaciones lecheras clasificadas según su sistema de alimentación.

En las explotaciones de pastoreo predomina la titularidad individual y en las más intensivas la titularidad asociativa. Las explotaciones de pastoreo tienen un tamaño de rebaño, una producción por explotación y por vaca y un consumo de concentrado por kg de leche inferiores a las explotaciones que basan la alimentación en ensilajes de hierba y de maíz ofrecidos en raciones completas con carro mezclador a animales estabulados permanentemente. Estas explotaciones son más intensivas, con mayores cargas y mayor producción de leche por unidad de superficie y mayor tasa de reposición.

Existe un gradiente de intensificación relacionado con un mayor uso de ensilaje de maíz en la alimentación de las vacas de leche. Las explotaciones de pastoreo ecológico son las más pequeñas, con el menor grado de frisonización en el rebaño, vacas menos productivas, más longevas, menores cargas por unidad de superficie y menor consumo de concentrado por kg de leche. La contribución de la hierba de pastos plurianuales y de los cultivos de invierno a la MS total solamente es superada por la del maíz en las explotaciones más intensivas (proporción 40:60), evidenciando la importancia de la hierba en las explotaciones de leche, incluso en las que utilizan una alta proporción de ensilaje de maíz en la alimentación.

En base a las estimaciones realizadas sobre los datos de la encuesta de 2014, la importancia en la producción de leche de los distintos tipos de explotaciones sería, de menor a mayor, las de pastoreo, las basadas en ensilaje de hierba, las de ensilajes de hierba y de maíz y las de ensilaje de maíz, aportando respectivamente 1.0, 1.4, 3.3 y 4.2 kg por cada 10 kg de leche producidos en Galicia. Dentro de las explotaciones de pastoreo, las ecológicas representan aproximadamente el 3% de la producción.

Un alto porcentaje de explotaciones declaró haber aumentado la superficie en los últimos años, siendo el arrendamiento la forma más habitual en todos los grupos. Sin embargo, solamente una de cada tres hectáreas de la superficie de la explotación es arrendada, siendo la propiedad la forma de tenencia mayoritaria, independientemente del sistema de alimentación.

La rotación de cultivos más frecuente en la muestra es la de raigrás italiano-maíz, seguida de la de mezclas de tréboles anuales y raigrás híbrido-maíz. Las explotaciones ecológicas realizan la rotación maíz-pradera. La mayor parte de las explotaciones intercala un cultivo de invierno con el maíz y solamente uno de cada 10 productores que siembran maíz nunca realiza una rotación con cultivo de invierno.

El grado de autosuficiencia forrajera es elevado, independientemente del tipo de explotación, dependiendo solamente del suministro del exterior de la explotación del 10% de la cantidad de MS consumida anualmente, siendo de señalar además que la producción forrajera en las explotaciones lecheras gallegas se realiza en los secanos húmedos atlánticos, sin recurrir al regadío, lo cual es una ventaja competitiva con otras zonas productoras del centro y sur de la Península.

El porcentaje mayoritario de las explotaciones expresó una opinión negativa acerca de la desaparición de la cuota láctea, siendo las explotaciones ecológicas las que mostraron una visión más optimista acerca del futuro sin cuotas. La media de edad de las personas titulares de las explotaciones de la muestra fue de 47.2 años, que en las explotaciones ecológicas tiende a ser más baja y con un nivel de estudios más elevado comparado con el resto de los grupos.

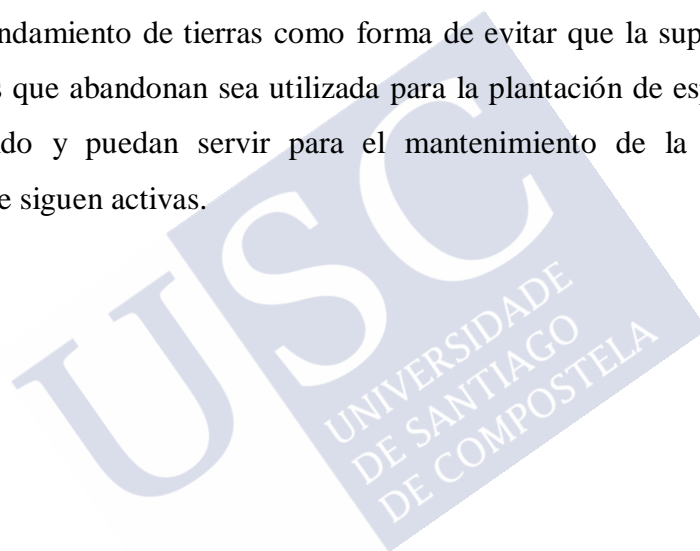
La necesidad de ampliar la base territorial de las explotaciones está, tras la respuesta genérica de mejorar el manejo, entre las principales prioridades de las explotaciones para encarar el futuro, de manera homogénea entre todos los grupos. Son mayoría las personas titulares partidarias de desintensificar la producción frente a los que desean aumentarla, pero se debe tener en cuenta que, en general, las explotaciones de la muestra utilizada en el presente trabajo están razonablemente bien dimensionadas, al menos de forma comparativa con las medias existentes en otras bases de datos más amplias para explotaciones que siguen sistemas de alimentación semejantes.

La totalidad de las explotaciones de pastoreo y de las basadas en ensilaje de hierba tienen intención de continuar en la actividad, mientras que 3 de cada 10 de las personas titulares de las explotaciones más intensivas tenían previsto cesar la actividad. En este caso, sin embargo, estas explotaciones continuarían previsiblemente su actividad ya que la totalidad de las mismas parecen tener la sucesión asegurada.

En las explotaciones que tenían previsto abandonar la actividad agraria, el destino más probable de las tierras sería el arrendamiento, opción seguida por la cesión en precario y

por la forestación, por orden de preferencia, si bien esta última figura como alternativa al arrendamiento y no está entre las primeras opciones de ninguno de los grupos encuestados.

Los resultados del trabajo confirman la existencia de dos modelos diferentes de producción dentro de Galicia en cuanto a dimensión, usos del suelo y sistemas de alimentación, pero que están afectados por la característica común de falta de superficie y el deseo de las personas titulares por ampliar la base territorial de la explotación, apuntando a un posible proceso de desintensificación para asegurar el futuro de las explotaciones. En este sentido la opción de la producción ecológica parece atraer a parte de los productores convencionales, sin duda motivados por los altos precios recibidos por la leche en este sistema. Es necesario el impulso de medidas positivas por parte de la administración para favorecer el arrendamiento de tierras como forma de evitar que la superficie liberada por las explotaciones que abandonan sea utilizada para la plantación de especies forestales de crecimiento rápido y puedan servir para el mantenimiento de la producción de las explotaciones que siguen activas.



4. CAPÍTULO II

INFLUENCIA DE LOS SISTEMAS DE ALIMENTACIÓN CARACTERÍSTICOS DE LAS EXPLOTACIONES DE VACUNO LECHERO DE GALICIA SOBRE LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS Y ANTIOXIDANTES LIPOSOLUBLES DE LA LECHE

4.1. INTRODUCCIÓN

Existen evidencias científicas acerca de que el consumo de lácteos ejerce una influencia positiva a largo plazo sobre la salud humana (Bauman y Lock, 2015), por lo que en la actualidad existe un renovado interés por el estudio de las relaciones entre la dieta y la composición de la leche. Numerosos autores han referido la fuerte influencia de la alimentación del ganado vacuno sobre la composición de la grasa de la leche y la relación positiva entre el consumo de forrajes frescos y la presencia de AG mono y poliinsaturados en la leche que son beneficiosos desde el punto de vista de la salud humana (Wyss y Collomb, 2010). A lo que se suma que las dietas ricas en hierba, especialmente cuando se realiza pastoreo, producen leche con un contenido superior en antioxidantes comparadas con las dietas de ensilaje de maíz y concentrados (Chilliard *et al.*, 2001). En Galicia coexisten diversos modelos de producción de leche de vaca, siendo predominante en las explotaciones de mayor tamaño el basado en el uso intensivo de concentrados y ensilajes de maíz y de hierba. Los sistemas que sustentan la alimentación del ganado en el consumo de pastos frescos durante el período de crecimiento activo de la hierba son más frecuentes en las explotaciones de menor dimensión, pudiendo encontrarse también en este segmento algunas granjas especializadas de mayor tamaño con suficiente base territorial. Todas estas explotaciones combinan el pastoreo en primavera y otoño con el uso de ensilajes de hierba y en menor medida de maíz en verano e invierno y una parte minoritaria de las mismas sigue un modelo de producción ecológica.

Hasta el momento, no hay información suficiente acerca de la composición de ácidos grasos y antioxidantes liposolubles en la leche producida en explotaciones gallegas en situaciones de alimentación comparables. Con el objetivo de aportar de información acerca de la composición de la leche producida en Galicia, su relación con el sistema de

alimentación y su variabilidad estacional, se muestran en este capítulo de la tesis los resultados de un estudio, realizado sobre una muestra representativa de los diversos sistemas de producción existentes en Galicia visitadas en cuatro trimestres consecutivos, en el que se analizó la composición de la dieta consumida por las vacas de leche y la composición fisicoquímica, perfil de ácidos grasos y concentración de antioxidantes liposolubles de la leche de tanque de las explotaciones.

4.2. MATERIAL Y MÉTODOS

4.2.1. Grupos de explotaciones y tamaño de la muestra

Antes del inicio de este estudio, en el primer semestre del 2016, se realizó un trabajo previo en un conjunto de explotaciones representativas de los diferentes modelos de producción de leche de Galicia, con el objetivo de obtener información sobre las características de estructura y sistema de alimentación, cuyos resultados se han ofrecido en el Capítulo I de esta tesis. Tras analizar la información generada por la muestra de 50 granjas lecheras, diferenciadas la realización o no del pastoreo y el tipo de ensilaje predominante (hierba y/o maíz forrajero) en los sistemas de animales estabulados con dietas de "todo ensilaje", se seleccionaron 25 granjas que se consideraron representativas de los distintos sistemas de producción. Los grupos y el número de granjas por grupo fueron: pastoreo ecológico (PE, n=6), pastoreo convencional (PC, n=5), ensilaje de hierba (EH, n=4), ensilajes de hierba y de maíz (EH-EM, n=5) y ensilaje de maíz (EM, n=5). Las granjas pertenecían a las provincias de A Coruña (ayuntamientos de A Baña, Aranga, Arzúa, Frades, Irixoa, Miño, Monfero e Ponteceso), Lugo (ayuntamientos de A Pastoriza, Castro de Rei, Friol, Guitiriz, Monterroso e Pol) y Pontevedra (ayuntamiento de Silleda), todas ellas situadas en la zona templado-húmeda donde se desenvuelve la producción de leche de Galicia.

4.2.2. Visitas a las explotaciones lecheras

Fueron realizadas cuatro visitas trimestrales a cada granja, siendo realizadas en las cuatro estaciones del año, tratando de representar la variabilidad en el sistema de alimentación dentro de cada sistema a lo largo del año. La visita 1 (otoño) se realizó del 28 de noviembre al 2 de diciembre del año 2016, la visita 2 (invierno) del 20 al 23 de febrero del 2017, la visita 3 (primavera) del 22 al 25 de mayo del 2017 y la visita 4 (verano) del 31 de julio al 3 de agosto del 2017.

Las fechas en las que se realizaron las visitas se escogieron con la intención de que no coincidiesen con cambios en la alimentación de las vacas en producción ni en las épocas de mayor carga de trabajo en una granja, principalmente de labores agrícolas como el ensilado o siembra de cultivos, para poder contar con una mayor disponibilidad de tiempo por parte del ganadero. Asimismo, las visitas se planificaron teniendo en cuenta la necesidad de que en el tanque hubiese un número de ordeños par, o en casos concretos de 3 ordeños diarios u ordeño con robot, cubrir el rango de 24 h de producción, condición necesaria para eliminar el posible efecto del momento del ordeño.

En cada visita se cubrió un cuestionario previo a la recogida de muestras. En él se preguntó información acerca del número de vacas en lactación, la producción de leche en los días previos y la ración consumida por las vacas en lactación los días anteriores a la visita, anotando los pesos de cada ingrediente. En el cuestionario también se tomó nota de la forma de suministro de la ración y si los animales salían al pasto, preguntando por el número de horas diarias que estaban pastando.

4.2.3. Toma de muestras en las explotaciones lecheras

Las muestras de los alimentos que componían la ración, descrita previamente por el ganadero, se tomaron de forma manual en el caso de ser forrajes secos, concentrado, harinas, tortas, pulpas, granos secos de destilería (DDGS) o unifeed (en caso de utilización en la explotación) y en el caso de los ensilajes, utilizando una sonda mecanizada desarrollada en el CIAM para extracción de muestras de los silos (Valladares *et al.*, 2005). En las granjas donde las vacas en lactación estaban pastoreando se tomó una muestra del pasto de forma manual, con un corte próximo a los 6-7 cm de altura respecto del suelo, tratando de representar la hierba potencialmente consumible por las vacas. Una vez tomadas las muestras, estas se refrigeraron en una nevera portátil, con placas de hielo, hasta su traslado al laboratorio del CIAM. Allí las muestras se secaron en estufa a 80 °C durante 16 h, almacenándose a 4 °C hasta su posterior análisis mediante NIRS.

Las muestras de leche se tomaron de la leche del tanque, siguiendo el protocolo establecido por el LIGAL (Laboratorio Interprofesional Galego de Análise do Leite). El primer paso del protocolo consiste en la identificación de la granja, seguido por una agitación previa de la leche, que tiene como finalidad una correcta homogeneización de

esta. En caso de realizarse la agitación con el agitador del tanque, el tiempo debe ser suficiente para garantizar la homogeneización, mientras que si se realiza de forma manual (con un muestreador metálico) la agitación debe durar alrededor de 2 minutos. La extracción de la muestra (50 ml) se realiza con un muestreador de acero inoxidable, introduciéndola posteriormente en un frasco estéril, debidamente identificado y cerrado herméticamente. Para este estudio se tomaron 5 alícuotas en cada granja, tres con conservante Bronopol y dos sin conservante. Las muestras se trasladaron refrigeradas en una nevera eléctrica Coolfreeze CF 25 (Dometic Group, Estocolmo, Suecia) con la temperatura regulada a 4°C. De las tres muestras con conservante, una se trasladó al LIGAL para la determinación de la composición fisicoquímica, congelándose a -18°C las dos restantes; una hasta su análisis en el CIAM por cromatografía de gases para la composición de ácidos grasos y la tercera se mantuvo como reserva. Las alícuotas sin conservante también se congelaron a -18°C, una hasta su análisis en el CIAM por HPLC para determinar la composición en antioxidantes liposolubles (vitaminas A y E y carotenoides) y otra como reserva.

4.2.4. Métodos de análisis de los alimentos

Las muestras de alimentos, previamente secadas en una estufa de aire forzado (Unitherm, Russell-Lindsey Engineering, Birmingham, Inglaterra) a 80 °C durante 16 h (Castro, 1996) para realizar la determinación del contenido en MS por gravimetría, fueron molidas a 1 mm en un molino de martillos (Christy&Norris, Ipswich, Inglaterra). La determinación de la composición nutricional de las muestras de forrajes se realizó preferentemente mediante el método NIRS (espectroscopia de infrarrojo cercano). La información espectral de las muestras, secas y molidas al menos 24 h antes, se obtuvo utilizando un espectrofotómetro monocromador Foss NIRSystem 6500 (Foss NIRSystem, Silver Spring, Washington, USA), situado en una cámara isoterma ($24\pm 1^{\circ}\text{C}$), provisto de un módulo de giro que realiza medidas de reflectancia en la región espectral comprendida entre 400 y 2500 nm, a intervalos de 2 nm. La recogida de los datos espectrales y el análisis quimiométrico de los mismos se llevó a cabo mediante el programa WinISI II v. 1.5 (Infrasoft International, Port Matilda, PA, USA, 2000). La huella óptica NIRS de las muestras de los forrajes fue interpretada utilizando las ecuaciones de calibración desarrolladas en el CIAM (Pereira-Crespo *et al.*, 2012; Pereira-Crespo *et al.*, 2014; Pereira-Crespo *et al.*, 2015; Pereira-Crespo y Flores-Calvete, 2015). Para los forrajes frescos las calibraciones permitieron la estimación de

los contenidos en materia orgánica (MO), proteína bruta (PB), fibra ácido detergente (FAD), fibra neutro detergente (FND), carbohidratos solubles en agua (CSA), carbohidratos no estructurales totales (CNET), digestibilidad de la materia orgánica (DMO) y contenido en AG. Para los ensilajes y el heno las calibraciones permitieron la estimación de los contenidos en MO, PB, FAD, FND, DMO, almidón (ALM, en el caso del maíz), pH, ácidos acético y láctico, N amoniacal ($N-NH_3$) y N soluble (Nsol). En el caso de muestras “outliers” (no reconocidas por las calibraciones NIRS disponibles), se analizaron en el laboratorio fisicoquímico del CIAM por métodos de referencia, siendo posteriormente integrados los nuevos valores en la correspondiente base de datos de calibraciones NIRS del CIAM para el forraje en cuestión. En las determinaciones por métodos de referencia, la MO se determinó por ignición en mufla a 550°C, PB por digestión micro Kjeldahl según Castro *et al.* (1990), la FAD y la FND en digestor Fibertec System 1020 de Foss Tecator siguiendo los métodos de Goering y Van Soest (1970) y de Van Soest y Robertson (1985) para FAD y FND respectivamente, los contenidos de CSA y de CNET según Castro (2000), el de extracto etéreo (EE) por el método oficial AOAC (2003) para alimentos animales y la DMO mediante el procedimiento de digestibilidad *in vitro* descrito por Tilley y Terry (1963), modificado por Alexander y McGowan (1966). El análisis de la composición química de los concentrados se realizó en el LIGAL, mediante NIRS, siguiendo procedimientos internos (LIGAL, 2019a).

4.2.5. Análisis fisicoquímico de la leche

La composición fisicoquímica de la leche fue analizada en el LIGAL según el procedimiento interno PE/LIGAL/34 (LIGAL, 2019b), mediante espectroscopía infrarroja FTMIR (Milkoscan, FOSS, Hillerød, Dinamarca). Las determinaciones realizadas fueron las concentraciones de materia grasa (MG), materia proteica (MP), lactosa (LACT), extracto seco magro (ESM), concentración de urea y punto crioscópico (FPD).

4.2.6. Análisis de ácidos grasos de la leche

La extracción de la grasa de la leche se realizó siguiendo el procedimiento descrito en la Norma Internacional ISO 14156:2001/IDF 172 (2001). En primer lugar, la muestra de leche, descongelada en cámara refrigerada durante 24 h, se atemperó en un baño de agua a 20°C (Selecta Tectron BIO 200, Barcelona, España), llevándola a 35-40°C y enfriándola rápidamente a 20°C \pm 2°C. Posteriormente, se tomaron 20 ml de muestra

bien homogeneizada para un embudo de decantación, donde se le añadieron 16 ml de etanol 96%, 4 ml de solución amoniacal al 30% y 20 ml de éter dietílico. Esta mezcla se agitó de forma energética durante 1 minuto y se dejó reposar hasta que tuvo lugar la separación de fases. A continuación, se le añadieron 20 ml de n-hexano, se mezcló y se dejó reposar para una nueva separación de fases, de donde se separó la fase acuosa. En el siguiente paso, se añadieron 20 ml de solución de sulfato de sodio al 10% y se agitó la mezcla de forma energética durante 1 minuto, dejando reposar hasta una nueva separación de fases, de la que se retiró la fase acuosa. Se transfirió la parte orgánica resultante a un matraz cónico, añadiéndole 2 g de sulfato sódico anhidro, mezclando para, a continuación, dejar reposar durante 10 minutos antes de filtrar su contenido a un matraz esmerilado. Finalmente se evaporó el filtrado en un rotavapor Buchi R-114 (Flawil, Suiza) con un baño de agua a 50°C, pasándole, inmediatamente, una corriente de nitrógeno. El residuo se volvió a disolver en hexano a un volumen final de 5 ml, denominado extracto.

Para la formación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos (FAME) se aplicó la Norma ISO 15884:2002/IDF 182 (2002). Se tomó una alícuota del extracto resultante de la extracción explicada en el párrafo anterior (aproximadamente 10 mg de grasa), se le agregaron 5 ml de n-hexano, se mezcló, añadiendo a continuación 0.2 ml de KOH metanólica, se agitó durante un minuto en un agitador tipo vórtex (Velp Scientífica Zx³, Milán, Italia) y se dejó en reposo 5 minutos. Seguidamente, se le añadieron 0.5 g de sodio hidroxenosulfato sólido y se centrifugó a temperatura ambiente en una centrifugadora Selecta Medifriger BL-S (Barcelona, España). Para finalizar, se cogió una alícuota en el sobrenadante para el análisis cromatográfico.

Los FAME se analizaron por cromatografía de gases utilizando un equipo Varian 3900 GC (California, Estados Unidos) con un detector de ionización de llama (FID) y una columna capilar BPX70 (120 m × 0.25 mm i.d., 0.25 µm de grosor de película) y un muestreador automático Varian 8410 (California, Estados Unidos). El inyector y el detector se mantuvieron a temperatura constante a 250°C. El programa de temperaturas del horno de la columna para la separación de los FAME se adaptó de la metodología descrita por Kramer *et al.* (2002), 45°C durante 4 minutos, aumentando 13°C/min hasta 175°C, manteniéndose durante 27 minutos, aumentando 4°C/min hasta 215°C y manteniéndose 35 minutos, con un tiempo de ejecución total de 85.62 min. El gas portador usado fue He a un flujo constante de 1.3 ml/min.

Los picos de los FAME se identificaron usando el patrón Supelco 37 Component FAME Mix, un estándar de referencia GC BC-Mix1 adquirido a Applied Science (Pensilvania, Estados Unidos) y estándares del metil TVA adquirido a Supelco Inc. (Pensilvania, Estados Unidos) y del metil CLAc9t11, adquirido a Matreya LLC (Pensilvania, Estados Unidos).

La cuantificación de los FAME se basó en el área del pico y en el cálculo utilizando tres estándares internos: metil nonanoato (C9:0) y metil *cis*-10-heptadecenoato (C17:1*c*10) adquiridos a Sigma-Aldrich (Madrid, España) y metil *trans*-10, *cis*-12-octadecadienoato (C18:2*c*12*t*10) adquirido a Matreya LLC (Pensilvania, Estados Unidos) según el rango de concentración dentro del perfil de AG, además, el nonadecanoato de metilo (C19:0) (adquirido a Sigma-Aldrich) se utilizó como subrogado. Mediante este método fue posible identificar y cuantificar un total de 45 AG individuales en las muestras de leche.

4.2.7. Análisis de antioxidantes liposolubles de la leche

La extracción/purificación de los carotenoides (xantofilas y carotenos) y vitaminas A y E en la leche realizó según la metodología descrita por Gentili *et al.* (2013). Las muestras de leche se dejaron descongelando en cámara frigorífica (4°C) el día previo a la extracción. La preparación de la muestra se realizó con luz tenue, empleando material cubierto con papel de aluminio, vidrio ámbar y se adicionó un antioxidante (0.1% de butilhidroxitolueno, BHT) a los solventes empleados. Para comenzar la extracción, la muestra se atemperó a temperatura ambiente, homogeneizándola con un vórtex, llevando posteriormente la muestra a 35-40°C en un baño de agua durante 10-15 min, enfriándola de nuevo a temperatura ambiente. Una vez atemperada, se introdujo una barrita magnética en la muestra y, bajo agitación, se tomó una alícuota de 6 ml. A continuación, se añadieron los subrogados correspondientes (150 µl de una solución [echinenone] = 4 ppm y 150 µl de la solución [δ-tocopherol] = 3 ppm), se agitó con un vórtex y se dejó equilibrar a temperatura ambiente durante 30 min. Transcurrido ese tiempo, se añadieron 18 ml de la solución de etanol absoluto con BHT (0.1%) y 1 ml de la solución de KOH (50%) en agua. Tras una nueva agitación con vórtex y volteo manual, se pasó el tubo con la muestra bajo una corriente de N₂ inerte durante 10 s, para desplazar el aire contenido en el mismo, tapándose apropiadamente y termostalizando a 25°C en un baño de agua con agitación y oscuridad durante toda la noche (mínimo 15 h). Al día siguiente, finalizada la incubación, se añadieron 8.5 ml de H₂O y se extrajeron los compuestos lipofílicos 3 veces con 12 ml de la solución de hexano con BHT (0.1%).

Las fases orgánicas combinadas se lavaron 2 veces con 12 ml de H₂O milli Q (dejando deslizar por las paredes) y se evaporó en corriente de N₂ hasta residuo seco. El residuo seco se reconstituyó en fase móvil (FM) y se filtró con filtro de jeringa (GHP, 0.22 µm, 13 mm) a un vial ámbar, para inyectar 20 µL en HPLC.

Para la detección y separación simultánea de xantofilas, carotenos y vitaminas A y E se utilizó un sistema HPLC (Alliance 2695, Waters, Massachusetts) equipado con dos detectores en serie, uno de UV-Vis (PDA) y otro de Fluorescencia (FD). La separación de los compuestos de interés se llevó a cabo empleando una columna de fase reversa, RP C18, 2.6 µm Kinetex (4.6 x 150 mm). La muestra y el horno de la columna se mantuvieron refrigerados, respectivamente, a 10 y 13°C. La elución de los compuestos en la columna se realizó empleando un flujo de 0.6 ml/min y un gradiente cuaternario de fase móvil (acetonitrilo (A), metanol con acetato de amonio (50 mM) (B), agua (C) y diclorometano (D). Se consiguió la identificación de α -tocoferol, γ -tocoferol, neoxantina, violaxantina, anteraxantina, luteína, zeaxantina, β -criptoxantina, all-*t*- β caroteno, *c*9- β caroteno y *c*13- β caroteno.

Para la cuantificación, a partir de cada solución individual se prepararon en FM las soluciones mix con los distintos niveles de los analitos de interés, mediante modelos de calibración externa, cuantificándose los antioxidantes liposubles de cada matriz. Las concentraciones se ajustaron según el factor de recuperación de los dos subrogados, echinenone y δ -tocopherol.

4.2.8. Cálculos realizados

4.2.8.1. Energía neta leche de los forrajes

A partir del contenido en MO de la MS y del valor de la DMO de los alimentos se calcularon las concentraciones de la materia orgánica digestible (MOD) por unidad de materia seca (DOMD), utilizando la expresión: $DOMD = MO \times DMO \times 0.01$, expresando la DOMD como g MOD/100 g MS, MO como g/100 g MS y DMO como g/100 g.

A partir de los valores de DOMD se calcularon los valores de la energía leche a nivel de mantenimiento de los forrajes (ENL_m), según la expresión $ENL_m = EM \times k_L$.

Para ello se tuvo en cuenta que, según el AFRC (1993), el aporte de 1 kg de MOD son 3.76 Mcal de energía metabolizable (EM) en el caso de forrajes verdes y ensilaje de maíz, mientras que aumenta a 3.84 Mcal EM/ kg MOD en ensilajes de hierba.

Por otra parte, k_L es la eficiencia de utilización de la EM para la producción de leche, calculándose según Vermorel *et al.* (1987) con la siguiente expresión: $k_L = 0.463 + 0.24 \times q$, donde “q” es la fracción de la energía metabolizable de la energía bruta (EB), calculada como $q = EM/EB$ (Van der Honing *et al.*, 1975). Se consideró un valor medio de EB para forrajes verdes y ensilajes de maíz de 4.44 Mcal/kg MS y de 4.56 Mcal/kg MS para ensilajes de hierba.

Teniendo en cuanto lo anterior, el cálculo de ENL_m se aproximó para forrajes verdes y ensilajes de maíz (i) y para ensilajes de hierba (ii) con las siguientes expresiones:

$$(i) \text{ ENL}_m (\text{Mcal/kg MS}) = 0.0174 \times \text{DOMD} + 0.000076 \times \text{DOMD}^2$$

$$(ii) \text{ ENL}_m (\text{Mcal/kg MS}) = 0.0178 \times \text{DOMD} + 0.000078 \times \text{DOMD}^2$$

4.2.8.2. Energía neta de los concentrados

El cálculo de la ENL_m en el caso de los concentrados se realizó a partir del contenido en FAD, utilizando la ecuación de regresión (adaptada de la fórmula 8. i de Clemson University, 1996):

$$\text{ENL}_m (\text{Mcal/kg MS}) = 2.17 - 0.0229 \times \text{FAD} (\% \text{ MS})$$

4.2.8.3. Estimación de la ingestión de pasto

La estimación de la ingestión de pasto en las granjas que se realizaba pastoreo se calculó a partir de la expresión $\text{IMS}_{\text{Pasto}} = \text{IMS}_{\text{Total}} - (\text{IMS}_{\text{comedero}})$, siendo:

i) $\text{IMS}_{\text{Pasto}} = \text{Ingesta (g MS/día) de pasto}$

ii) $\text{IMS}_{\text{Total}} = \text{Ingesta total diaria de MS (kg MS/día) calculada según la expresión}$

$$\text{IMS}_{\text{Total}} = ((0.372 \times \text{PL}_{4\text{MG}}) + (0.0968 \times \text{PV}^{0.75})) \times (1 - e^{(-0.192 \times (\text{SEL} + 3.67))})$$
 tomada del NRC (2001): donde $\text{PL}_{4\text{MG}}$ es la producción diaria de leche corregida al 4% de materia grasa calculada según $\text{PL}_{4\text{MG}} = \text{PL} \times (0.15 \times \text{MG} + 0.4)$ donde PL es la producción diaria de leche, MG es la materia grasa de la leche (g/100g), PV es el peso vivo de la vaca (kg) y SEL es la semana de lactación, estimándose que las vacas pesaban de media 650 kg y estaban en la mitad de la lactación (semana 26) dentro de un intervalo entre partos habitual de 365 días.

iii) $\text{IMS}_{\text{comedero}} = \text{Oferta de MS (kg/día) a cada vaca en el comedero, según las cantidades de consumo indicadas por los ganaderos.}$

4.2.8.4. Índices de calidad de los lípidos

A partir de las concentraciones de los distintos AG se realizaron los siguientes cálculos sobre los índices de calidad de la grasa láctea:

- i) Ratio omega-6/omega-3, calculado como el cociente entre las respectivas sumas de los AG individuales de ambas series:

$$\text{Omega-6/omega-3} = (\text{C18:2n6t} + \text{C18:2n6c} + \text{C18:3n6} + \text{C20:2n6} + \text{C20:3n6} + \text{C20:4n6}) / (\text{C18:3n3} + \text{C20:5n3} + \text{C22:5n3} + \text{C22:6n3})$$

- ii) Ratio hipo/hiper colesterolémico (Santos-Silva *et al.*, 2002):

$$\text{h/H} = (\text{C18:1c9} + \text{C18:2n6} + \text{C20:4n6} + \text{C18:3n3} + \text{C20:5n3} + \text{C22:5n3} + \text{C22:6n3}) / (\text{C14:0} + \text{C16:0})$$

- iii) Índice aterogénico (Ulbrich y Southgate, 1991):

$$\text{IA} = (\text{C12:0} + \text{C14:0} \times 4 + \text{C16:0}) / (\text{omega-3 AGPI} + \text{omega-6 AGPI} + \text{AGMI})$$

- iv) Índice trombogénico (Ulbrich y Southgate 1991):

$$\text{IT} = (\text{C14:0} + \text{C16:0} + \text{C18:0}) / (0.5 \times \text{AGMI} + 0.5 \times \text{omega-6 AGPI} + 3 \times \text{omega-3 AGPI} + (\text{omega-3 AGPI} / \text{omega-6 AGPI})).$$

4.2.8.5. Análisis estadístico de los resultados

Los datos fueron analizados estadísticamente utilizando el paquete estadístico SAS v. 9.4 (SAS Institute, 2012). Para el análisis de los datos obtenidos en cada visita trimestral (composición de la dieta consumida por las vacas, valor nutricional de alimentos, producción y composición de la leche) la unidad experimental era la explotación en cada visita, siendo realizado un análisis de varianza (ANOVA) mediante el procedimiento GLM para lo cual se utilizó el modelo $y = \mu + \alpha G + \beta E + (\alpha\beta) G \times E + \varepsilon$, donde el tratamiento (G), la época del año (E) y su interacción (GxE) se consideraron factores fijos. A fin de evaluar el efecto de la estación del año en cada grupo de explotaciones se realizó un ANOVA de una vía para cada grupo por separado, con la estación del año (momento de muestreo) como variable de clasificación considerando la explotación como unidad experimental. Las variables de porcentajes (x) fueron transformadas mediante la función $\arcsen\sqrt{x}$ antes de ser analizadas en el ANOVA. La separación de medias fue realizada mediante el procedimiento LSMEANS, aplicando el valor de la diferencia mínima significativa (d.m.s.) entre dos medias calculado como

$d.m.s. = t_{0.025, g.l.e} \times \sqrt{\frac{2 MSE}{n}}$, donde *g.l.e* son los grados de libertad del denominador del test F, *MSE* es el cuadrado medio del error y *n* es el número de observaciones por tratamiento.

Se evaluó la capacidad de asignar el origen alimentario de las muestras de leche a dos grupos (presencia o no de pastos frescos en la dieta) mediante la aplicación del procedimiento STEPDISC para seleccionar las variables que mejor discriminaban la pertenencia de cada muestra a uno de los dos grupos. Posteriormente mediante el procedimiento DISCRIMIN se aplicaron las ecuaciones discriminantes al total de las observaciones mediante un procedimiento de validación cruzada, siendo obtenidas las frecuencias de asignación correcta de las muestras a cada uno de los grupos. Por otra parte, para evaluar la posibilidad de predecir la proporción de pastos frescos en la dieta de las vacas a partir de la composición de las muestras de leche se efectuó un análisis de regresión paso a paso utilizando el procedimiento STEPWISE para seleccionar las variables con mayor poder de predicción y se ajustó un modelo de regresión lineal simple mediante el procedimiento GLM. Previamente todos los valores de porcentajes se transformaron mediante la función $\arcsen\sqrt{x}$.

4.3. RESULTADOS

4.3.1. Climatología de la zona en el período de estudio

Los valores de temperatura y precipitación en el otoño de 2016 estuvieron dentro de lo esperado para la zona (Meteogalicia, 2019). En el siguiente invierno la temperatura media en la zona de influencia atlántica estuvo por encima de los 10 °C y en las zonas de interior los valores medios de temperatura se movieron entre los 6 °C y los 9 °C, siendo la precipitación total de algo más de 300 mm, inferior a los valores medios de la zona. La primavera de 2017 fue cálida y seca, con una temperatura media de +1.8 °C sobre los valores normales, y un 17% de precipitaciones inferiores al valor esperado. El verano siguiente fue también más cálido de lo normal (+0.9 °C) y seco, con un 27% de precipitaciones por debajo del valor climático esperado.

4.3.2. Índices técnicos de las explotaciones

Las principales características técnicas de las 25 explotaciones participantes, agrupadas en las cinco tipologías de alimentación, se muestran en la Tabla 4.1. Se reproducen las diferencias entre los distintos grupos analizadas en el apartado anterior de la presente tesis, evidenciándose una mayor intensificación en las explotaciones que basan su alimentación en ensilajes ofrecidos en raciones completas a vacas estabuladas, comparadas con las explotaciones que realizan pastoreo. Las explotaciones basadas en ensilaje de maíz tienen la mayor producción media de leche por explotación y por vaca, significativamente superior al resto de los grupos, mientras que las de pastoreo ecológico presentan valores medios significativamente inferiores al resto, con valores medios, para PE, PC, EH, EH-EM y EM, respectivamente, de 188, 458, 597, 966 y 1724 t de leche/explotación y 18.3, 20.7, 28.0, 33.4 y 36.6 kg de leche/vaca y día como media de las cuatro visitas realizadas. La superficie forrajera de las explotaciones de pastoreo (PE: 38.7 ha, PC: 58.1 ha) no difirió estadísticamente de la de los grupos EH (44.9 ha) y EH-EM (53.1 ha) y todas ellas fueron significativamente inferiores a las del grupo EM. La carga ganadera descendió significativamente desde EM (3.2 UGM/ha SAU) a PE (1.3 UGM/ha SAU) con valores intermedios para EH-EM, EH y PE (2.6, 2.1 y 1.5 UGM/ha SAU), no siendo diferentes entre sí las medias de los dos grupos de pastoreo. Las vacas del grupo de producción ecológica pastaron durante más tiempo (8.8 h/día) que las vacas del sistema convencional (7.6 h/día), siendo la diferencia significativa. Una de las explotaciones del grupo EH sacaba ocasionalmente a pastar a las vacas de leche, con una media anual de permanencia en el pasto de 1.3 h/día.

Tabla 4.1.- Índices técnicos de las explotaciones

	Grupo de explotaciones					<i>s.e.m.</i>	<i>d.m.s.</i>	<i>Significación (P)</i>		
	PE (n=6)	PC (n=5)	EH (n=4)	EH-EM (n=5)	EM (n=5)			<i>G</i>	<i>E</i>	<i>GxE</i>
Producción de leche										
toneladas/explot.	188.2	458.0	597.6	966.8	1724.5	211.3	597.7	***	-	-
kg/vaca y día	18.3	20.7	28.0	33.4	36.6	0.96	2.71	***	NS	NS
kg PL4MG/vaca y día	17.6	20.4	27.7	32.1	34.1	0.79	2.23	***	NS	NS
Rebaño lechero										
Vacas leche (nº)	32.7	59.9	59.5	95.9	160.8	16.3	46.1	***	NS	NS
Vacas frisonas (nº)	26.1	51.4	54.4	95.8	160.8	16.4	46.2	***	NS	NS
% Frisonas	77.1	87.5	84.9	99.9	100.0	4.3	12.2	***	NS	NS
UGM (nº)	48.8	90.8	88.8	146.0	234.7	25.1	71.0	***	-	-
Superficie rebaño lechero										
SAU (ha)	38.7	58.1	44.9	53.1	85.2	9.3	26.4	**	-	-
Carga (UGM/ha)	1.3	1.6	2.0	2.7	2.8	0.14	0.39	***	-	-
Horas de pastoreo										
Horas/día	8.8	7.6	1.3	0.0	0.0	0.78	2.21	***	***	***

PE: pastoreo (ecológico); PC: pastoreo (convencional); EH: ensilaje hierba; EH-EM: ensilajes hierba y maíz; EM: ensilaje maíz; *s.e.m.*: error estándar de la media; *d.m.s.*: diferencia mínima significativa entre dos medias de la misma fila ($\alpha=0.05$); *P*: significación del test F en el ANOVA. NS: $P>0.05$; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$; G: grupo; E: estación del año; PL4MG: producción de leche corregida al 4% de grasa

4.3.3. La composición de la dieta en los grupos de explotaciones

Los datos medios obtenidos en las cuatro encuestas alimentarias efectuadas a las explotaciones a lo largo del año de estudio, relativos a composición y consumo de MS de la ración, se muestran en la Tabla 4.2. La ingestión de MS (IMS) fue significativamente diferente entre grupos, descendiendo desde el grupo EM al PE. En el mismo sentido se comportó el valor de la eficiencia de transformación de la MS en leche (EFI), no siendo significativamente diferente el valor medio de los dos grupos de ensilaje de maíz. Para los grupos EM, EH-EM, EH, PC y PE, respectivamente, los valores medios de IMS (kg MS/vaca y día) fueron 24.4, 23.4, 21.9 19.0 y 18.2 kg MS y para EFI (kg de leche corregida al 4% de materia grasa/kg MSI) fueron 1.40, 1.39, 1.27, 1.08 y 0.97. El efecto de la estación no fue significativo para IMS ni para EFI, manteniéndose las diferencias relativas entre grupos a lo largo de las cuatro visitas como se deduce de la no significación de la interacción Grupo x Estación.

Como es lógico, las diferencias entre grupos para la composición de la dieta media de las cuatro visitas, fueron altamente significativas. En los dos grupos de pastoreo, la hierba fresca representó (referida a MS) el 46.0% en PE y el 42.6% para PC, siendo la del ensilaje de hierba del 28.1 y 23.1%, la del ensilaje de maíz 2.3 y 6.3%, la de forrajes secos 9.0 y 9.4% y la de concentrados 14.6 y 18.5%, sin diferencias significativas entre

ambos grupos en las respectivas proporciones. Para el grupo EH, las proporciones medias en la MS diaria fueron de 2.8% para la hierba fresca, 46.6% para el ensilaje de hierba, 5.6% para el ensilaje de maíz, 2.0% para los forrajes secos y 43.0% para los concentrados. Para el grupo EH-EM, la MS de la ración media anual estaba compuesta por 35.4% de ensilaje de maíz, 23.3% de ensilaje de hierba, 1.6% de forrajes secos y 39.6% de concentrados. Finalmente, para el grupo EM dichas proporciones fueron 44.4% de ensilaje de maíz, 10.2% de ensilaje de hierba, 3.1% de forrajes secos y 42.2% de concentrado.

El contenido en almidón de la dieta se incrementó desde el 5.5 y 8.3% MS en PE y PC hasta 23.8 y 25.6% MS en EH-EM y EM, con un valor intermedio de 17.4 %MS en el grupo EH. Para vacas de alta producción el NRC (2001) recomienda que las raciones para vacas de leche deben contener un mínimo del 30-32% de carbohidratos no fibrosos, de los cuales el almidón es el componente más importante, mientras que otros autores, como por ejemplo Hutjens (2008), sugieren un 22-26% MS de almidón y un 4-6% de azúcares para asegurar una adecuada producción de proteína en la leche.

En la Tabla 4.3 se muestra la variación de la composición de la dieta de los diferentes grupos de explotaciones en los cuatro momentos de muestreo. Las proporciones de hierba fresca y de ensilaje de hierba en la MS de la ración del grupo de PE variaron significativamente entre las distintas épocas, siendo para las visitas realizadas en otoño, invierno, primavera y verano, respectivamente, del 45.6, 36.1, 67.4 y 34.9% para el pasto fresco y del 29.9, 42.9, 5.6 y 33.8% para el ensilaje de hierba. Estas cifras muestran la substitución del pasto en invierno y verano por el ensilaje de hierba, manteniéndose la proporción de concentrado entre el 13.2 y el 16.7%, la de forrajes secos entre el 5.9 y el 12.4% y la participación minoritaria de ensilaje de maíz se situó entre 0.0 y 4.3% de la MS total. En el grupo de pastoreo convencional, la proporción estimada de pasto fresco en la MS de la dieta fue del 45.0, 18.2, 70.1 y 37.3 % en las visitas de otoño, invierno, primavera y verano, siendo estos valores muy próximos a los de pastoreo ecológico. En dichos momentos la contribución a la MS total de la dieta por parte del ensilaje de hierba fue del 14.6, 36.2, 9.7 y 32.0% y la del ensilaje de maíz de 8.7, 11.2, 0.0 y 5.4%. La proporción de concentrado en la dieta varió entre el 14.0 % en primavera y el 20.5 % en verano y la de forrajes secos entre 4.8% en verano y 14.3% en invierno, estando todos los valores referidos a MS total. Como era de esperar, las proporciones relativas de los distintos ingredientes de las raciones completas de los

grupos EH, EH-EM y EM no fueron significativamente diferentes entre las épocas de muestreo.

Tabla 4.2.- Caracterización de la dieta media de los distintos grupos de explotaciones

	Grupo de explotaciones					<i>s.e.m.</i>	<i>d.m.s.</i>	<i>Significación (P)</i>		
	PE	PC	EH	EH-EM	EM			<i>G</i>	<i>E</i>	<i>GxE</i>
<i>n</i>	24	20	16	20	20					
Ingestión de MS y eficiencia										
IMS (kg MS/vaca y día)	18.2	19.0	21.9	23.4	24.4	0.53	1.51	***	NS	NS
EFI (kg leche/kg MS)	0.97	1.08	1.27	1.39	1.40	0.04	0.10	***	NS	NS
Composición de la dieta (%MS total)										
Hierba fresca	46.0	42.6	2.8	0.0	0.0	3.63	10.26	***	**	*
Ensilaje de hierba	28.1	23.1	46.6	23.3	10.2	3.06	8.66	***	**	*
Ensilaje de maíz	2.3	6.3	5.6	35.4	44.4	1.98	5.59	***	NS	NS
Forrajes secos	9.0	9.4	2.0	1.6	3.1	1.65	4.67	***	NS	NS
Concentrados	14.6	18.5	43.0	39.6	42.2	2.02	5.72	***	NS	NS
Gasto de concentrado										
g concentrado/kg FPCM	145	170	336	287	302	15.7	42.3	***	NS	NS
Almidón de la dieta										
% MS total	5.5	8.1	17.4	23.8	25.6	0.77	2.19	***	NS	NS
Vitaminas A y E del concentrado										
Vitamina A (mg/kg MS)	-	5.4	4.7	4.7	4.9	-	-			
Vitamina E (mg/kg MS)	-	37.8	45.7	51.4	65.8	-	-			

PE: pastoreo (ecológico); PC: pastoreo (convencional); EH: ensilaje hierba; EH-EM: ensilajes hierba y maíz; EM: ensilaje maíz; s.e.m.: error estándar de la media; d.m.s.: diferencia mínima significativa entre dos medias de la misma fila ($\alpha=0.05$); *P*: significación del test F en el ANOVA. NS: $P>0.05$; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$; MS: materia seca; G: grupo; E: estación del año; FPCM: leche corregido al 4% de materia grasa

El gasto medio de concentrado/kg de leche corregida en grasa de los cinco grupos fue de 145, 170, 336, 287 y 302 g /kg, respectivamente para PE, PC, EH, EH-EM y EM. Se destaca que el consumo de los grupos de pastoreo es mucho más bajo que el de los grupos que alimentan con mezclas completas y que el valor más elevado fue el del grupo basado en ensilaje de hierba, que no se diferenció del correspondiente al grupo basado en ensilaje de maíz. Los valores medios (en g de concentrado/kg de leche) observados en otoño, invierno, primavera y verano fueron, para las explotaciones del grupo PE, de 159, 154, 123 y 144 g/kg, de 187, 175, 127 y 191 g/kg para PC, de 347, 340, 309 y 347 g/kg para EH, de 283, 287, 287 y 293 g/kg para EH-EM y de 290, 283, 319 y 317 g/kg para las de EM.

Tabla 4.3.- Variación estacional de la dieta consumida por grupo de explotaciones

	Época de muestreo				s.e.m.	d.m.s.	P
	Otoño	Invierno	Primavera	Verano			
Grupo PE							
Horas de pastoreo							
Horas/día	8.8	6.0	14.0	6.2	1.88	5.53	*
Composición de la dieta (%MS total)							
Hierba fresca	45.6	36.1	67.4	34.9	11.26	33.22	NS
Ensilaje de hierba	29.9	42.9	5.6	33.8	7.83	23.09	*
Ensilaje de maíz	4.3	0.0	2.8	2.2	2.30	6.78	NS
Forrajes secos	5.9	6.8	10.9	12.4	4.10	12.10	NS
Concentrados	14.2	14.3	13.2	16.7	3.78	11.16	NS
Grupo PC							
Horas de pastoreo							
Horas/día	6.2	2.4	15.6	6.2	2.13	6.40	*
Composición de la dieta (%MS total)							
Hierba fresca	45.0	18.2	70.1	37.3	7.37	22.10	**
Ensilaje de hierba	14.6	36.2	9.7	32.0	4.99	14.95	*
Ensilaje de maíz	8.7	11.2	0.0	5.4	6.31	18.93	NS
Forrajes secos	12.3	14.3	6.2	4.8	4.22	12.66	NS
Concentrados	19.4	20.1	14.0	20.5	3.39	10.17	NS
Grupo EH							
Horas de pastoreo							
Horas/día	1.8	0.0	1.5	2.0	1.25	3.84	NS
Composición de la dieta (%MS total)							
Hierba fresca	2.8	0.0	6.3	2.0	2.94	9.05	NS
Ensilaje de hierba	45.0	45.7	48.2	47.7	3.68	11.34	NS
Ensilaje de maíz	4.6	6.5	5.7	5.5	4.58	14.11	NS
Forrajes secos	3.6	3.2	0.6	0.5	0.87	2.70	NS
Concentrados	44.0	44.6	39.3	44.3	5.87	18.07	NS
Grupo EH-EM							
Horas de pastoreo							
Horas/día	0.0	0.0	0.0	0.0	-	-	-
Composición de la dieta (%MS total)							
Hierba fresca	0.0	0.0	0.0	0.0	-	-	-
Ensilaje de hierba	18.6	23.3	23.5	27.8	3.48	10.42	NS
Ensilaje de maíz	41.2	36.1	32.7	31.7	3.47	10.41	NS
Forrajes secos	2.7	1.5	1.9	0.3	1.19	3.58	NS
Concentrados	37.5	39.1	41.8	40.1	2.32	6.96	NS
Grupo EM							
Horas de pastoreo							
Horas/día	0.0	0.0	0.0	0.0	-	-	-
Composición de la dieta (%MS total)							
Hierba fresca	0.0	0.0	0.0	0.0	-	-	-
Ensilaje de hierba	10.5	9.3	10.8	10.3	2.77	8.30	NS
Ensilaje de maíz	45.2	46.8	42.4	43.4	2.43	7.28	NS
Forrajes secos	3.4	3.3	2.9	3.0	1.94	5.81	NS
Concentrados	41.0	40.6	43.9	43.4	2.75	8.24	NS

s.e.m.: error estándar de la media; d.m.s: diferencia mínima significativa entre dos medias de la misma fila ($\alpha=0.05$); P: significación del test F en el ANOVA. NS: $P>0.05$; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$; n: número de observaciones

4.3.4. Composición nutricional de los alimentos

En las tablas siguientes se describen los valores medios del valor nutricional de los ingredientes de la ración, tomados en el transcurso de las visitas a las explotaciones.

4.3.4.1. Hierba fresca

Los valores medios de las muestras de hierba fresca de las explotaciones que realizan pastoreo en los sistemas ecológico y convencional se muestran en la Tablas 4.4 y 4.5, respectivamente. El pasto ecológico mostró un contenido medio de MS del 22.7%, con valores medios (en %MS) de 89.6% MO, 18.6% PB, 24.8% FAD, 46.5% FND, 13.4% CSA y 14.3% CNET, conjuntamente con un valor de DMO del 71.0% y 1.42 Mcal ENL/kg MS, lo cual evidencia un alto valor proteico y un moderado-alto valor energético. La época del año modificó la composición nutricional del pasto. Las muestras de otoño e invierno tienen altos contenidos en PB (20.7 y 23.0 %MS), bajos valores de fibra (FAD: 21.6 y 20.4% MS, FND: 43.8 y 43.8% MS), alta digestibilidad (72.0 y 72.5% DMO) y valores medio-altos de energía (1.42 y 1.42 Mcal ENL/kg MS). En primavera el contenido en PB es más bajo (16.4% MS) y el contenido en fibra algo más alto (FAD: 26.9% MS, FND: 45.5% MS) pero la digestibilidad y la concentración energética son algo más altos (DMO: 73.7%, ENL: 1.48 Mcal ENL/kg MS) al incrementarse los valores de CSA y CNET respecto de los valores del invierno. La variación más importante se produce en las muestras tomadas en verano, donde el contenido proteico baja hasta el 14.5% MS, el contenido en fibra sube (FAD: 30.5% MS, FND: 53.0% MS) y consecuentemente se reducen tanto la DMO (66.0%) como el valor de ENL (1.33 Mcal/kg MS), sin duda reflejando el efecto de la madurez del pasto.

La composición media anual de la hierba de las explotaciones que realizan pastoreo en el sistema convencional mostró valores de MS del 19.0% y una composición (en %MS) de 89.1% MO, 18.3% PB, 25.2% FAD, 43.7% FND, 13.8% CSA y 14.8% CNET, con valores de DMO de 73.3% y de ENL de 1.46 Mcal/kg MS, todos ellos muy próximos a los de los pastos ecológicos, con un valor energético ligeramente más alto. El contenido en MS de la hierba de pastoreo convencional en las muestras de otoño e invierno (16.6 y 13.8% MS) fue más bajo que el observado en los pastos ecológicos, mientras que los contenidos en PB (18.9 y 22.8% MS), FAD (24.4 y 19.2% MS), FND (43.1 y 38.3% MS) siguieron la misma tendencia indicada para aquellos.

Tabla 4.4.- Composición de la hierba fresca de explotaciones ecológicas

	Estación del año							
	Otoño		Invierno		Primavera		Verano	
	Media	std	Media	std	Media	std	Media	std
Materia seca (%)								
MS	18.9	3.33	21.4	4.47	18.7	2.95	31.7	5.75
Composición química (%MS)								
MO	88.8	0.65	88.2	1.33	89.7	1.16	91.5	1.39
PB	20.7	2.06	23.0	4.13	16.4	2.81	14.5	3.39
FAD	21.6	2.95	20.4	3.10	26.9	2.43	30.5	2.40
FND	43.8	8.83	43.8	5.16	45.5	3.69	53.0	3.21
CSA	15.0	3.35	12.5	2.90	14.7	4.27	11.6	3.25
CNET	15.9	3.49	13.2	3.02	15.8	4.35	12.1	3.26
Digestibilidad y valor energético								
DMO (%)	72.0	5.02	72.5	3.65	73.7	2.61	66.0	2.77
DOMD (%)	63.9	3.86	63.9	2.26	66.1	2.23	60.4	1.58
ENLm (Mcal/kg MS)	1.42	0.10	1.42	0.06	1.48	0.06	1.33	0.04
UFL/kg MS	0.84	0.06	0.84	0.04	0.87	0.04	0.78	0.02

std: desviación estándar de la media; MS: Materia seca; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; FAD: fibra ácido detergente; FND: fibra neutro detergente; CSA: carbohidratos solubles en agua; CNET: carbohidratos no estructurales; DMO: digestibilidad de la MO; DMOD: concentración de MO digestible en la MS; ENLm: energía neta leche a nivel de mantenimiento; UFL: unidades forrajeras leche (1UFL=1.7 Mcal/kg MS)

Tabla 4.5.- Composición de la hierba fresca de explotaciones de pastoreo convencional

	Estación del año							
	Otoño		Invierno		Primavera		Verano	
	Media	std	Media	std	Media	std	Media	std
Materia seca (%)								
MS	16.6	3.34	13.8	2.63	19.0	1.75	26.5	4.04
Composición química (%MS)								
MO	89.0	1.85	86.3	1.90	90.1	1.94	91.1	0.56
PB	18.9	5.00	22.8	1.28	16.6	5.71	14.8	1.88
FAD	24.4	5.14	19.2	0.80	26.9	5.67	30.3	3.71
FND	43.1	6.37	38.3	3.75	46.9	9.27	46.6	4.65
CSA	14.2	3.94	14.0	1.80	15.6	2.98	11.5	3.03
CNET	15.1	4.23	14.8	1.87	16.5	3.02	12.6	3.17
Digestibilidad y valor energético								
DMO (%)	73.8	4.84	77.7	4.11	73.1	4.06	73.3	4.61
DOMD (%)	65.6	3.21	67.0	1.90	65.8	2.36	65.2	3.59
ENLm (Mcal/kg MS)	1.47	0.09	1.51	0.05	1.47	0.06	1.46	0.10
UFL/kg MS	0.86	0.05	0.89	0.03	0.87	0.04	0.86	0.06

std: desviación estándar de la media; MS: Materia seca; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; FAD: fibra ácido detergente; FND: fibra neutro detergente; CSA: carbohidratos solubles en agua; CNET: carbohidratos no estructurales; DMO: digestibilidad de la MO; DMOD: concentración de MO digestible en la MS; ENLm: energía neta leche a nivel de mantenimiento; UFL: unidades forrajeras leche (1UFL=1.7 Mcal/kg MS)

Los valores de digestibilidad de las muestras de otoño e invierno, en particular estas últimas, fueron muy altas (DMO 73.8 y 77.7%), si bien la concentración energética se redujo a valores de 1.47 y 1.51 Mcal ENL/kg MS debido al elevado contenido en cenizas de las muestras, que llegaron a casi el 14% MS en invierno. Al igual que sucediera con los pastos ecológicos, en relación al otoño-invierno, los valores medios de la hierba de primavera mostraron un menor contenido en PB (16.6 %MS), mayor contenido en fibra (FAD 26.9% MS, FND 46.9% MS) y digestibilidad y contenido energético algo inferiores (DMO 73.1%, ENL 1.47 Mcal/kg MS). También el cambio más importante se produce en verano, con caída del contenido en PB (14.8% MS), aumento del contenido en FAD (30.3% MS) y descenso de DMO (68.8%) y ENL (1.39 Mcal/kg MS), siguiendo el mismo patrón descrito anteriormente.

4.3.4.2. Ensilajes de hierba

En la Tabla 4.6 se indican los valores medios de la composición de las muestras de ensilaje de hierba tomadas en las explotaciones durante las visitas trimestrales a las explotaciones. De media, el ensilaje de hierba tenía un 34.8% de MS, mostrando que la hierba había sido objeto de un presecado en el campo, con un contenido (en %MS) de 91.0% MO, 11.2% PB, 35.5% FAD y 53.4% FND, siendo los valores de DMO de 67.6% y de ENL 1.39 Mcal/kg MS. Comparando con los valores medios de la hierba de pastoreo anteriormente referidos, se observa un menor contenido en PB, mayor contenido de fibra y menor digestibilidad reflejando, por una parte, el previsible estado de madurez más avanzado de la hierba para ensilar y por otra los cambios acontecidos durante el proceso de secado en el campo y el almacenamiento en el silo. La calidad fermentativa media fue buena, con pH de 4.11, 6.55% MS de láctico y 2.0% MS de acético. Los valores (en % de N total) de N amoniacal (6.6%) y N soluble (47%) fueron también indicadores de una adecuada calidad de conservación.

Comparando los valores medios de las muestras de cada grupo, se observa que los ensilajes de hierba de las explotaciones de pastoreo ecológicas y convencionales tienden a tener contenidos más altos de fibra (FAD 38.4 y 35.8%, FND 57.9 y 54.7%) y menor digestibilidad y concentración energética (DMO 61.2 y 65.8%, ENL 1.25 y 1.35 Mcal/kg MS) comparados con los restantes grupos, reflejando probablemente un mayor estado de madurez del pasto en el ensilado, lo que encajaría con el alto contenido en MS del forraje (39.8 y 39.5%). La menor calidad nutricional es más pronunciada para los ensilajes de las explotaciones ecológicas, que tienen los contenidos medios de PB más

bajos de todos los grupos (9.2% MS). La concentración proteica y energética de las muestras del grupo EH son, de media, las más altas de la muestra con valores de PB de 12.7% MS, de DMO de 71.4% y de ENL de 1.47 Mcal/kg MS.

Tabla 4.6.- Composición de los ensilajes de hierba en las explotaciones

	Grupo de explotaciones									
	PE		PC		EH		EH-EM		EM	
	Media	std	Media	std	Media	std	Media	std	Media	std
Materia seca (%)										
MS	39.8	15.76	39.5	12.98	36.1	13.75	30.5	8.59	28.6	8.28
Composición química (%MS)										
MO	92.1	2.83	91.3	2.06	90.3	1.90	90.5	1.22	90.8	1.61
PB	9.2	3.25	11.5	2.68	12.7	2.11	11.7	2.83	11.0	3.78
FAD	38.4	5.19	35.8	5.03	33.4	2.79	34.7	4.85	34.6	5.81
FND	57.9	9.52	54.7	8.98	50.6	4.41	51.8	6.92	51.8	7.67
Digestibilidad y valor energético										
DMO (%)	61.2	7.01	65.8	6.06	71.4	3.77	70.0	6.55	70.1	6.71
DOMD (%)	56.3	6.39	60.1	5.43	64.4	3.31	63.4	5.55	63.6	5.76
ENLm (Mcal/kg MS)	1.25	0.17	1.35	0.15	1.47	0.09	1.44	0.15	1.45	0.16
UFL/kg MS	0.74	0.10	0.80	0.09	0.87	0.05	0.85	0.09	0.85	0.09
Parámetros fermentativos										
pH	4.40	0.23	4.26	0.41	4.18	0.50	3.85	0.47	3.90	0.30
Láctico (%MS)	3.2	2.5	4.9	4.0	6.6	4.0	9.4	3.5	8.0	2.8
Acético (%MS)	1.9	1.1	1.8	0.7	2.2	0.8	2.0	0.8	2.3	0.8
N-NH ₃ (%Nt)	6.6	3.6	6.3	3.0	6.3	5.2	7.2	3.2	6.5	3.2
Nsol (%Nt)	40.8	9.1	41.0	7.0	48.1	12.8	50.5	7.1	54.6	8.1

PE: pastoreo (ecológico); PC: pastoreo (convencional); EH: ensilaje hierba; EH-EM: ensilajes hierba y maíz; EM: ensilaje maíz; std.: desviación estándar de la media; MS: materia seca; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; FAD: fibra ácido detergente; FND: fibra neutro detergente; DMO: digestibilidad de la MO; DOMD: concentración de MO digestible en la MS; ENLm: energía neta leche a nivel de mantenimiento; UFL: unidades forrajeras leche (1 UFL=1.7 Mcal/kg MS); Láctico y Acético: ácidos de fermentación; N-NH₃: nitrógeno amoniacal; Nsol: nitrógeno soluble; Nt: nitrógeno total

Comparados con los restantes grupos, los valores de pH de los ensilajes de las explotaciones EH-EM y EM fueron más bajos (3.85 y 3.90) y los contenidos de ácido láctico más elevados (9.4 y 8.0% MS) reflejando el menor contenido en MS de las muestras (30.5 y 28.6% MS). Previsiblemente en estos ensilajes el menor contenido en MS daría lugar a una fermentación más intensa en el silo que la producida en el caso de los restantes grupos, donde el forraje entró al silo con menor humedad. Se destaca, en todo caso, la aceptable calidad fermentativa de los ensilajes en todos los grupos, así como la indicación de que la cosecha de la hierba en las explotaciones de pastoreo, sobre todo en las ecológicas, debería realizarse en un estado de madurez menos avanzado.

4.3.4.3. Ensilajes de maíz

Las características medias de las muestras de ensilajes de maíz reproducen el perfil característico para este forraje, relativo a un alto valor energético, un bajo contenido proteico, una buena calidad de conservación y una baja variabilidad de los parámetros químico-bromatológicos incluso entre muestras de diferentes explotaciones (Tabla 4.7).

Tabla 4.7.- Composición de los ensilajes de maíz en las explotaciones

	Grupo de explotaciones									
	PE		PC		EH		EH-EM		EM	
	Media	std	Media	std	Media	std	Media	std	Media	std
Materia seca (%)										
MS	30.1	2.03	32.1	0.70	30.6	1.13	32.2	2.94	33.5	2.24
Composición química (%MS)										
MO	96.2	0.43	96.1	0.47	96.4	0.23	95.9	0.47	95.8	0.33
PB	6.7	0.22	7.1	0.98	6.9	0.65	7.0	0.69	6.7	0.61
FAD	25.3	2.40	22.3	1.80	25.4	1.05	23.3	2.66	21.6	1.80
FND	45.7	3.69	40.8	1.86	44.9	0.69	42.4	2.92	40.7	2.47
ALM	24.4	3.99	29.7	3.30	23.8	0.85	27.0	5.68	30.7	4.38
Digestibilidad y valor energético										
DMO (%)	69.4	1.88	71.5	1.29	67.6	0.94	70.5	1.01	71.6	1.00
DOMD (%)	66.8	1.59	68.7	1.26	65.2	0.94	67.6	1.04	68.6	1.01
ENLm (Mcal/kg MS)	1.50	0.04	1.55	0.04	1.46	0.03	1.52	0.03	1.55	0.03
UFL/kg MS	0.88	0.03	0.91	0.02	0.86	0.02	0.90	0.02	0.91	0.02
Parámetros fermentativos										
pH	3.62	0.07	3.64	0.13	3.66	0.17	3.56	0.13	3.51	0.10
Láctico (%MS)	5.6	1.1	5.9	0.8	5.5	2.0	6.8	1.7	6.9	1.5
Acético (%MS)	1.7	0.5	1.6	0.4	1.4	0.5	1.7	0.5	1.8	0.5
N-NH ³ (% Nt)	7.9	1.1	7.5	0.6	9.3	0.8	8.7	0.9	9.2	1.2
Nsol (%Nt)	52.2	6.4	58.4	1.6	56.8	0.9	59.8	4.9	62.5	3.9

PE: pastoreo (ecológico); PC: pastoreo (convencional); EH: ensilaje hierba; EH-EM: ensilajes hierba y maíz; EM: ensilaje maíz; std.: desviación estándar de la media; MS: materia seca; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; FAD: fibra ácido detergente; FND: fibra neutro detergente; ALM: almidón; DMO: digestibilidad de la MO; DMOD: concentración de MO digestible en la MS; ENLm: energía neta leche a nivel de mantenimiento; UFL: unidades forrajeras leche (1 UFL=1.7 Mcal/kg MS); Láctico y Acético: ácidos de fermentación; N-NH₃: nitrógeno amoniacal; Nsol: nitrógeno soluble; Nt: nitrógeno total

El valor medio de MS del conjunto de muestras de ensilajes de maíz fue del 32.4% y su composición (en %MS) fue 95.9% MO, 6.9% PB, 22.9% FAD, 42.1% FND, 28.2% ALM, siendo su digestibilidad y contenido energético de 70.7% DMO y 1.53 Mcal ENL/kg MS. Los valores de pH (3.56) y ácidos láctico (6.6% MS) y acético (1.7% MS) son todos ellos indicativos de una buena calidad de conservación. No se observaron diferencias apreciables entre los valores medios de los distintos grupos para la composición, digestibilidad, valor energético y parámetros fermentativos de las

muestras de ensilaje de maíz, señalándose la relativa constancia de su valor nutricional en contraposición a los ensilajes de hierba, que muestran una variabilidad mucho mayor.

4.3.4.4. Forrajes secos

En la Tabla 4.8 se muestran los valores medios de la composición de los henos de hierba de praderas y/o prados realizados en las explotaciones, así como de la paja comprada. La calidad nutricional de los henos es baja, con valores de PB que oscilaron entre 7.2 y 8.4% MS, altos contenidos en FAD (41.0 a 42.3% MS) y FND (66.0 a 66.9% MS) y bajos valores de DMO (43.2 a 44.8% MS) y de ENL (0.86 a 0.88 Mcal/kg MS), sin diferencias apreciables entre grupos de explotaciones.

Tabla 4.8.- Composición de los henos de hierba y pajas de las explotaciones

	Henos PE		Henos PC		Henos Resto explot.		Paja Todas explot.	
	Media	std	Media	std	Media	std	Media	std
Materia seca (%)								
MS	86.6	2.09	86.7	1.74	87.6	1.87	-	-
Composición química (%MS)								
MO	93.5	0.74	92.8	0.74	93.1	0.85	94.8	0.97
PB	7.2	1.66	8.4	2.43	7.8	2.11	4.5	0.73
FAD	41.0	3.16	42.5	3.38	41.7	3.62	49.1	3.29
FND	66.0	4.20	66.9	5.26	66.4	4.59	82.1	3.25
Digestibilidad y valor energético								
DMO (%)	44.8	4.43	43.2	5.00	44.1	4.85	37.21	3.7
DOMD (%)	41.9	4.01	40.1	4.45	41.1	4.37	35.28	3.6
ENLm (Mcal/kg MS)	0.90	0.10	0.86	0.11	0.88	0.11	0.71	0.08
UFL/kg MS	0.53	0.06	0.51	0.07	0.52	0.07	0.42	0.05

PE: pastoreo (ecológico); PC: pastoreo (convencional); std.: desviación estándar de la media; MS: materia seca; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; FAD: fibra ácido detergente; FND: fibra neutro detergente; DMO: digestibilidad de la MO; DMOD: concentración de MO digestible en la MS; ENLm: energía neta leche a nivel de mantenimiento; UFL: unidades forrajeras leche (1 UFL=1.7 Mcal/kg MS)

La baja calidad nutricional de los henos de las explotaciones en Galicia, en comparación con los ensilajes de hierba, se explica por la necesidad de tener que esperar a la entrada del verano para poder realizar el curado de la hierba en el campo en condiciones de insolación, temperaturas elevadas y baja humedad relativa, lo que obliga a cortar a hierba en un estado fenológicamente avanzado, con un valor nutricional reducido.

4.3.4.5. Concentrados

Los valores medios de la composición de los concentrados utilizados en las explotaciones se indica en la Tabla 4.9, donde se puede observar que para las explotaciones de pastoreo y las del grupo de ensilaje de hierba, el contenido medio

proteico del concentrado es más bajo y el contenido en almidón más alto, comparado con los concentrados de las explotaciones que utilizan ensilajes de maíz. Así, para los grupos PE, PC y EH, los valores medios (en %MS), respectivamente, de PB y ALM fueron 15.0 y 38.3, 16.9 y 38.9 y 14.9 y 42.4. Para los grupos EH-EM y EM los valores respectivos de PB y ALM (%MS) fueron 23.6 y 30.3 y 24.8 y 26.3, reflejando por un lado el papel del concentrado para compensar el escaso o nulo contenido en almidón de la hierba y el bajo contenido proteico del ensilado de maíz, por otro. El contenido energético fue muy parecido entre grupos, estando en el intervalo de ENL de 2.00 – 2.04 Mcal/kg MS.

Tabla 4.9.- Composición de los concentrados utilizados en las explotaciones

	Grupos de explotaciones									
	PE		PC		EH		EH-EM		EM	
	Media	std	Media	std	Media	std	Media	std	Media	std
Materia seca (%)										
MS	87.7	0.88	85.9	1.16	85.7	1.22	86.1	0.60	86.2	0.84
Composición química (%MS)										
MO	95.8	0.40	94.1	0.94	95.0	1.90	93.7	0.76	92.8	1.22
PB	15.0	1.12	16.9	1.49	14.9	4.54	23.6	2.92	24.8	2.34
EE	3.7	0.69	4.0	1.39	3.4	0.87	3.5	1.00	3.3	0.91
FB	5.9	0.58	4.6	0.79	5.2	3.78	4.9	1.18	5.9	1.32
FAD	7.4	0.73	5.7	0.99	6.6	4.72	6.1	1.47	7.4	1.65
ALM	38.3	1.43	38.9	1.76	42.4	14.32	30.3	5.06	26.3	3.78
Valor energético										
ENLm (Mcal/kg MS)	2.00	0.02	2.04	0.02	2.02	0.11	2.03	0.03	2.00	0.04
UFL/kg MS	1.18	0.01	1.20	0.01	1.19	0.06	1.19	0.02	1.18	0.02

PE: pastoreo (ecológico); PC: pastoreo (convencional); EH: ensilaje hierba; EH-EM: ensilajes hierba y maíz; EM: ensilaje maíz; std.: desviación estándar de la media; cv: coeficiente de variación; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; EE: extracto etéreo; FB: fibra bruta; FAD: fibra ácido detergente; ALM: almidón; ENLm: energía neta leche a nivel de mantenimiento; UFL: unidades forrajeras leche (1UFL=1.7 Mcal/kg MS)

4.3.4.6. Mezclas completas

Los valores medios de las muestras de mezclas completas de las explotaciones de los grupos que basan la alimentación en los ensilajes se muestran en la Tabla 4.10. Los valores medios de MS oscilaron entre 41.4 y 42.4%, los de PB entre 14.7 y 15.4% MS, los de almidón entre 25.3 y 26.8% MS y la concentración energética entre 1.61 y 1.63 Mcal/Kg MS, todos ellos dentro de los rangos considerados normales para alimentación de vacas de leche, sin diferencias apreciables entre los distintos grupos de explotaciones.

Tabla 4.10.- Composición de las mezclas completas utilizadas en las explotaciones

	Grupos de explotaciones					
	EH		EH-EM		EM	
	Media	std	Media	std	Media	std
MS	41.4	3.61	42.4	5.19	42.4	5.61
Composición química (%MS)						
MO	93.4	0.85	93.6	0.64	93.0	1.28
EE	3.5	0.50	3.5	0.25	3.6	0.54
PB	15.0	1.46	15.4	0.95	14.7	1.54
FB	17.9	1.13	17.6	1.45	18.2	2.04
FAD	22.2	1.46	21.5	1.43	22.6	2.72
FND	37.7	2.26	37.1	1.65	37.8	2.65
ALM	25.3	2.80	26.8	2.92	24.5	5.26
Digestibilidad y valor energético						
DMO (%)	72.4	1.86	72.1	1.38	71.6	2.45
DOMD (%)	67.6	1.94	67.5	1.42	66.6	2.87
ENLm (Mcal/kg MS)	1.63	0.05	1.63	0.04	1.61	0.08
UFL/kg MS	0.96	0.03	0.96	0.03	0.95	0.04

EH: ensilaje hierba; EH-EM: ensilajes hierba y maíz; EM: ensilaje maíz; std.: desviación estándar de la media; cv: coeficiente de variación; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; EE: extracto etéreo; FB: fibra bruta; FAD: fibra ácido detergente; FND: fibra neutro detergente; ALM: almidón; DMO: digestibilidad de la MO; DMOD: concentración de MO digestible en la MS; ENLm: energía neta leche a nivel de mantenimiento; UFL: unidades forrajeras leche (1UFL=1.7 Mcal/kg MS)

4.3.5. Contenido en ácidos grasos de la hierba fresca

En las Tablas 4.11 y 4.12 se muestran los valores medios de los AG del pasto obtenidos en las explotaciones de pastoreo, ecológicas y convencionales, a lo largo de las cuatro visitas realizadas durante el estudio. En los pastos de las explotaciones ecológicas el contenido medio anual de AG totales (AGt) es de 12.7 g/kg MS, mostrando el típico perfil poliinsaturado de las forrajeras pratenses, con porcentajes medios de SFA, MUFA y PUFA de 22.3, 3.0 y 74.6 % AGt. El ácido graso predominante es el alfa-linolénico, seguido del linoleico y del palmítico (C16:0), estos últimos en una proporción semejante, con valores medios de 57.4, 16.2 y 16.1% AGt, respectivamente.

El rasgo más destacable de la variación de la composición de AG entre las muestras tomadas en las cuatro estaciones es la mayor concentración de AGt en otoño e invierno (13.5 y 18.8 g/kg MS) y un descenso en las muestras de primavera (11.8 g/kg MS) que continúa con un mínimo en verano (8.94 g/kg MS) como consecuencia de la madurez del pasto. La proporción relativa de AG en el perfil también se modifica en las diferentes épocas de muestreo. La proporción de ALA es más alta en otoño e invierno

(62.5 y 63.0% AGt), seguida de LA (16.5 y 13.9% AGt) y de palmítico (12.6 y 14.5% AGt). En primavera y en verano disminuye la proporción de ALA (de 55.2 a 47.3% AGt) mientras se incrementa la proporción de palmítico (de 17.6 a 20.3% AGt) seguido en orden de importancia por el LA, que pasa de 16.9 a 18.0% AGt.

Tabla 4.11.- Variación estacional de la composición de ácidos grasos de los pastos de explotaciones ecológicas

	Época del año							
	Otoño		Invierno		Primavera		Verano	
	Media	std	Media	std	Media	std	Media	std
Perfil de AG (% AG total)								
C12:0	1.03	0.13	0.88	0.09	0.91	0.13	1.26	0.28
C14:0	0.41	0.12	0.39	0.13	0.32	0.12	0.60	0.17
C15:0	0.17	0.06	0.16	0.06	0.28	0.06	0.35	0.08
C16:0	12.64	0.63	14.54	1.46	17.62	1.40	20.37	3.89
C16:1	0.13	0.05	0.19	0.10	0.18	0.03	0.26	0.08
C17:0	0.12	0.04	0.16	0.08	0.27	0.03	0.34	0.11
C18:0	1.45	0.37	1.72	0.40	1.88	0.20	2.58	1.01
C18:1n9c	2.04	0.33	1.96	1.09	2.28	0.58	3.93	1.84
C18:2n6c	16.51	1.17	13.90	0.63	16.90	1.65	18.03	2.57
C18:3n6	0.39	0.08	0.32	0.07	0.52	0.07	0.62	0.13
C18:3n3	62.58	3.13	63.03	4.27	55.23	3.84	47.37	9.07
C20:0	0.32	0.26	0.50	0.15	0.46	0.11	0.78	0.36
C20:3n3	0.22	0.06	0.21	0.04	0.29	0.04	0.33	0.11
C20:4n6	0.13	0.08	0.15	0.10	0.26	0.06	0.28	0.10
C20:1	0.17	0.06	0.20	0.02	0.30	0.06	0.33	0.06
C22:0	0.74	0.31	0.82	0.23	1.15	0.09	1.13	0.23
C22:1n9	0.09	0.03	0.07	0.03	0.09	0.02	0.16	0.03
C24:0	0.85	0.42	0.81	0.16	1.05	0.21	1.28	0.21
SFA	17.74	1.93	19.98	2.64	23.95	1.87	28.69	5.72
MUFA	2.44	0.43	2.42	1.23	2.85	0.65	4.68	1.90
PUFA	79.83	2.28	77.60	3.81	73.20	2.28	66.63	7.53
Concentración de AG (g/kg MS)								
AG total	13.50	1.51	15.88	3.23	11.86	1.21	8.94	2.12

std.: desviación estándar de la media; AG: ácidos grasos; SFA: AG saturados; MUFA: AG monoinsaturados; PUFA: AG poliinsaturados

El contenido en AG de las muestras de hierba de las explotaciones de pastoreo que siguen el sistema convencional es, de media, muy parecido a la de los pastos ecológicos, así como su patrón de variación a lo largo de las diferentes estaciones. De media, la concentración de AGt en la hierba pastada por las vacas en el sistema convencional es de 13.4 g/kg MS, ligeramente superior al valor medio de los pastos ecológicos. La proporción de los grupos de AG saturados, mono y poliinsaturados es semejante, con valores medios (en % AGt) de 21.7 para SFA, de 2.85 para MUFA y de 75.0 para

PUFA. La proporción relativa de ALA, LA y palmítico fue de 57.6, 17.0 y 16.2 % AGt, considerando la media del conjunto de las muestras de hierba del sistema convencional.

Tabla 4.12.- Variación estacional de la composición de ácidos grasos de los pastos en explotaciones que realizan pastoreo en un sistema convencional

	Época del año							
	Otoño		Invierno		Primavera		Verano	
	Media	std	Media	std	Media	std	Media	std
Perfil de AG (% AG total)								
C12:0	0.85	0.19	0.70	0.12	0.91	0.15	0.93	0.11
C14:0	0.28	0.08	0.19	0.17	0.23	0.16	0.47	0.21
C15:0	0.10	0.07	0.11	0.03	0.27	0.14	0.29	0.07
C16:0	12.60	0.53	13.77	1.12	17.53	2.70	21.39	4.79
C16:1	0.09	0.03	0.14	0.02	0.17	0.03	0.25	0.09
C17:0	0.06	0.05	0.11	0.05	0.25	0.11	0.31	0.05
C18:0	1.31	0.28	1.30	0.58	1.69	0.65	2.83	1.01
C18:1n9c	1.82	0.97	1.57	0.68	2.16	0.75	4.34	2.05
C18:2n6c	16.57	1.81	14.04	1.62	18.17	2.31	20.15	3.94
C18:3n6	0.29	0.08	0.29	0.05	0.51	0.12	0.53	0.11
C18:3n3	64.09	3.29	65.37	3.27	54.49	6.12	44.28	12.90
C20:0	0.27	0.06	0.46	0.24	0.40	0.31	0.75	0.23
C20:1	0.14	0.06	0.20	0.02	0.31	0.12	0.32	0.07
C20:3n3	0.20	0.05	0.23	0.02	0.31	0.09	0.37	0.06
C20:4n6	0.12	0.08	0.14	0.02	0.29	0.10	0.28	0.11
C22:0	0.61	0.19	0.71	0.18	1.20	0.45	1.21	0.42
C22:1n9	0.06	0.02	0.06	0.01	0.10	0.06	0.12	0.04
C24:0	0.54	0.36	0.61	0.18	1.01	0.43	1.19	0.42
SFA	16.62	1.37	17.97	2.58	23.50	4.59	29.37	6.87
MUFA	2.11	0.92	1.96	0.69	2.74	0.87	5.03	2.18
PUFA	81.27	1.79	80.07	3.19	73.76	5.32	65.60	8.88
Concentración de AG (g/kg MS)								
AG total	15.39	2.03	18.32	1.05	11.55	4.04	9.51	1.24

std.: desviación estándar de la media; AG: ácidos grasos; SFA: AG saturados; MUFA: AG mono-insaturados; PUFA: AG poliinsaturados

Como sucediera con los pastos ecológicos, el contenido más alto de AGt se observó en otoño, y sobre todo en invierno (15.3 y 18.3 g/kg MS) con valores ligeramente por encima de los del pasto ecológico, descendiendo posteriormente en las muestras de primavera (11.5 g/kg MS) y de verano (9.51 g/kg MS). La evolución del perfil de AG en los distintos muestreos evidenció nuevamente un descenso de ALA a partir del invierno y un incremento casi proporcional de LA y palmítico, con valores (en % AGt), respectivamente, de 64.0, 16.5 y 12.6 en otoño, de 65.3, 14.0 y 13.7 en invierno, de 54.4, 18.1 y 17.5 en primavera y de 44.2, 20.1 y 21.3 en verano.

Comparando la concentración de ALA en la MS de los pastos del sistema convencional con los de ecológico se observa que, de media, es de 7.7 y 7.2 g/kg MS,

respectivamente. Su evolución en las muestras de otoño, invierno, primavera y verano fue, respectivamente, de 9.8, 11.9, 6.2 y 4.2 g/kg MS para la hierba del sistema convencional y de 8.4, 10.0, 6.5 y 4.2 g/kg MS para la hierba del sistema ecológico.

4.3.6. Contenido en ácidos grasos de los ensilajes de hierba y de maíz

4.3.6.1. Ensilajes de hierba

Los ensilajes de hierba mantuvieron el perfil poliinsaturado de las muestras de pasto fresco, pero, comparado con éstas, mostraron una concentración más baja de AG en la MS, un valor de la proporción de ALA más reducido y un incremento de la proporción de palmítico (Tabla 4.13). El valor medio de la concentración de AG en el conjunto de las muestras de ensilaje de hierba de las explotaciones fue de 7.0 g/kg MS y la proporción de ALA, LA y palmítico fue de 41.2, 18.3 y 25.3% AGt, recordando a las características del pasto de verano, si bien con una menor concentración de AGt en la MS, probablemente reflejando el estado de madurez de la hierba en el momento de corte para ensilar y los procesos oxidativos durante el presecado que reducen ulteriormente el contenido total de AG de la hierba secada en el campo.

Las muestras de ensilajes de las explotaciones ecológicas mostraron, frente a los demás grupos, los valores medios más bajos de la concentración de AGt en la MS y de la proporción de PUFA y ALA y los más altos de la proporción de SFA en el total de AG. Los valores medios para las explotaciones de los grupos PE, PC, EH, EH-EM y EM fueron, para el total de AG, de 5.7, 7.3, 8.5, 6.9 y 6.8 g/kg MS, para la proporción de PUFA 56.9, 62.2, 65.9, 60.1 y 57.9% AGt, para la de ALA 35.4, 43.0, 50.6, 40.4 y 37.6% AGt y para SFA 35.8, 32.2, 29.2, 35.1 y 37.4% AGt, respectivamente. El cálculo de la concentración de ALA en la MS de los ensilajes de hierba indicó que los del grupo PE tuvieron el valor más bajo (2.0 g/kg MS), seguidos de EM (2.56 g/kg MS), EH-EM (2.79 g/kg MS), PC (3.18 g/kg MS) y EH (4.30 g/kg MS). Los resultados parecen indicar que los ensilajes de hierba de las explotaciones ecológicas habrían sido cortados en un estado de madurez algo más avanzada en comparación con los restantes grupos y/o habrían permanecido secando en el campo durante algo más de tiempo, lo cual parece coincidir con los resultados del análisis químico-bromatológico de estos ensilajes, anteriormente comentados.

Tabla 4.13.- Composición de ácidos grasos de los ensilajes de hierba

	Grupo de explotaciones									
	PE		PC		EH		EH-EM		EM	
	Media	std	Media	std	Media	std	Media	std	Media	std
Perfil de AG (% AG total)										
C12:0	1.55	0.52	1.41	0.35	1.21	0.30	1.48	0.34	1.41	0.24
C14:0	0.83	0.56	0.57	0.36	0.27	0.20	0.30	0.19	0.35	0.19
C15:0	0.53	0.27	0.47	0.29	0.29	0.14	0.45	0.20	0.43	0.26
C16:0	26.72	4.58	23.85	7.02	22.08	4.16	26.58	8.81	27.09	6.57
C16:1	0.33	0.31	0.21	0.16	0.12	0.10	0.12	0.12	0.14	0.14
C17:0	0.34	0.18	0.24	0.16	0.15	0.13	0.18	0.12	0.23	0.15
C18:0	2.44	0.85	2.37	0.89	2.70	0.69	2.83	0.97	3.58	1.16
C18:1n9c	6.19	1.85	4.72	1.49	4.17	1.11	3.97	1.65	3.92	1.34
C18:2n6c	20.52	8.24	18.39	5.99	14.69	2.73	18.63	4.86	19.26	7.17
C18:3n6	0.41	0.28	0.36	0.21	0.32	0.24	0.45	0.24	0.42	0.28
C18:3n3	35.43	12.67	43.04	12.55	50.64	6.20	40.45	16.62	37.66	15.99
C20:0	0.58	0.35	0.35	0.29	0.23	0.24	0.25	0.18	0.59	0.33
C20:1	0.47	0.21	0.45	0.21	0.34	0.11	0.46	0.14	0.45	0.22
C20:3n3	0.14	0.16	0.08	0.09	0.07	0.08	0.12	0.11	0.18	0.16
C20:4n6	0.42	0.33	0.37	0.22	0.25	0.17	0.46	0.26	0.45	0.30
C22:0	1.21	0.50	1.36	0.82	1.36	0.53	1.64	0.83	1.84	0.77
C22:1n9	0.21	0.15	0.18	0.11	0.13	0.04	0.16	0.09	0.17	0.07
C24:0	1.69	0.99	1.59	1.05	1.01	0.46	1.45	0.78	1.82	1.04
SFA	35.88	5.94	32.20	9.40	29.29	5.72	35.17	11.42	37.34	9.46
MUFA	7.20	2.19	5.56	1.61	4.76	1.23	4.72	1.87	4.68	1.46
PUFA	56.92	7.23	62.24	10.73	65.96	6.69	60.11	12.87	57.98	10.38
Concentración de AG (g/kg MS)										
AG total	5.74	2.03	7.39	2.67	8.50	1.47	6.91	1.99	6.82	1.81

PE: pastoreo (ecológico); PC: pastoreo (convencional); EH: ensilaje hierba; EH-EM: ensilajes hierba y maíz; EM: ensilaje maíz; std.: desviación estándar de la media; AG: ácidos grasos; SFA: AG saturados; MUFA: AG mono-insaturados; PUFA: AG poliinsaturados

4.3.6.2. Ensilajes de maíz

El análisis de perfil de AG para las muestras de los ensilajes de maíz solamente se realizó sobre dos de las muestras de cada grupo, presentándose en la Tabla 4.14 los valores medios para el total de explotaciones. Como puede observarse, el perfil de AG del ensilaje de maíz difiere del de los ensilajes de especies pratenses. Con una concentración de AGt de 8.10 g/kg MS, las muestras de ensilaje de maíz siguen teniendo una composición de AG eminentemente insaturada, con valores de SFA, MUFA y PUFA de 20.8, 30.7 y 48.3% AGt, pero con una participación mucho más alta de la fracción monoinsaturada. Por otra parte, el AG predominante en los ensilajes de maíz es el LA (44.8% AGt), seguido del oleico (C18:1n9c, con el 29.8% AGt) y del

palmítico (15.1% AGt), con una proporción relativa de ALA mucho más baja (3.4 %AGt), comparada con los valores medios de las muestras de los ensilajes de hierba.

Tabla 4.14.- Composición de ácidos grasos de los ensilajes de maíz

	Media	std
Composición de AG (% AG total)		
C12:0	0.50	0.08
C14:0	0.33	0.10
C15:0	0.06	0.03
C16:0	15.14	1.56
C16:1	0.42	0.30
C17:0	0.20	0.06
C18:0	2.89	0.72
C18:1n9c	29.89	5.63
C18:2n6c	44.81	6.45
C20:0	0.63	0.29
C18:3n6	0.00	0.00
C20:1	0.39	0.15
C18:3n3	3.40	1.16
C21	0.00	0.00
C22:0	0.56	0.20
C22:1n9	0.09	0.07
C20:3n3	0.00	0.00
C20:4n6	0.12	0.04
C24:0	0.58	0.18
SFA	20.88	1.93
MUFA	30.79	5.63
PUFA	48.33	5.94
Concentración de AG (% MS)		
AG total	8.10	1.57

std.: desviación estándar de la media; AG: ácidos grasos; SFA: AG saturados; MUFA: AG mono-insaturados; PUFA: AG poliinsaturados

4.3.7. Efecto del sistema de alimentación en la composición de la leche

4.3.7.1. Composición fisicoquímica

El sistema de alimentación influyó significativamente sobre la composición fisicoquímica de la leche (Tabla 4.15). El contenido en materia grasa más alto fue el del grupo PC (3.97%), significativamente superior a los de EH-EM (3.76%), PE (3.70%) y EM (3.60%), no diferenciándose del grupo EH (3.87%). El valor más bajo de materia proteica de la leche se observó en el grupo de pastoreo ecológico (3.07), siendo significativamente inferior al resto, cuyos valores medios mostraron una tendencia creciente con el incremento de almidón en la dieta (PC: 3.25%, EH: 3.25%, EH-EM: 3.31% y EM: 3.32%) aunque no se diferenciaron estadísticamente entre sí. Los valores más altos de lactosa y extracto seco magro correspondieron a los dos grupos que basan la alimentación del ganado en el ensilaje de maíz, y los valores más bajos fueron para el

grupo de pastoreo ecológico, significativamente inferior al resto. Los valores medios para LACT y ESM (en %) fueron 4.61 y 8.42 para PE, 4.66 y 8.68 para PC, 4.77 y 8.78 para EH, 4.81 y 8.88 para EH-EM y 4.85 y 8.93 para EM.

La leche de las explotaciones que realizan pastoreo ecológico mostró los valores medios de punto crioscópico (°C) más altos de los distintos grupos (PE: -0.521) seguida de las explotaciones de pastoreo convencional (PC: -0.526), siendo significativamente diferentes entre sí. Ambos valores fueron, a su vez, significativamente diferentes de los observados en los sistemas de alimentación con raciones completas mezcladas y proporciones más altas de concentrado (EH: -0.528, EH-EM: -0.527, EM: -0.527), sin diferencias entre ellas. Los valores de urea en leche oscilaron entre 216 y 265 mg/L, estando este intervalo dentro de un rango que se considera normal en las explotaciones.

Tabla 4.15.- Composición fisicoquímica de la leche

GRUPO	Grupo de explotaciones					s.e.m.	d.m.s.	Significación (P)		
	PE	PC	EH	EH-EM	EM			G	E	GxE
n	24	20	16	20	20					
Composición fisicoquímica										
Materia grasa (%)	3.70	3.97	3.87	3.76	3.60	0.066	0.187	***	NS	NS
Materia proteica (%)	3.07	3.25	3.25	3.31	3.32	0.024	0.068	***	**	**
Lactosa (%)	4.61	4.66	4.77	4.81	4.85	0.016	0.045	***	**	NS
Extracto seco magro (%)	8.42	8.68	8.78	8.88	8.93	0.032	0.092	***	**	***
FPD (x -1 °C)	0.521	0.526	0.529	0.528	0.528	0.001	0.002	***	***	NS
Urea (mg/L)	216	228	265	257	249	12.92	36.56	***	NS	NS

PE: pastoreo (ecológico); PC: pastoreo (convencional); EH: ensilaje hierba; EH-EM: ensilajes hierba y maíz; EM: ensilaje maíz; s.e.m.: error estándar de la media; d.m.s.: diferencia mínima significativa entre dos medias de la misma fila ($\alpha=0.05$); P: significación del test F en el ANOVA. NS: $P>0.05$; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$; G: grupo; E: estación del año; FPD: punto crioscópico; CSOM: células somáticas

El efecto de la época del año en que se tomó la muestra fue significativo para los contenidos de la leche en MP, LACT, ESM y FPD, siendo observada una interacción significativa entre el sistema de alimentación y el momento de muestreo para MP y LACT.

En la Tabla 4.16 se muestran los valores medios de variación estacional de la composición fisicoquímica de la leche para cada uno de los grupos. En todos ellos se observó una tendencia hacia un mayor contenido en MG y MP de la leche en el muestreo del invierno. En la leche de pastoreo ecológico el contenido en MP en otoño (3.17%) fue significativamente superior al valor observado en verano (2.97%), siendo observada también una tendencia a aumentar el punto crioscópico de la leche en verano (-0.518 °C) en relación a los valores de invierno y otoño (-0.522 y -0.523 °C). En el

grupo de pastoreo convencional fueron significativamente superiores los contenidos en MP y ESM de la leche del otoño (3.38 y 8.85%) en comparación con los valores del verano (3.18 y 8.58%).

Tabla 4.16.- Variación estacional de la composición fisicoquímica de la leche

	Época de muestreo				s.e.m.	d.m.s.	P
	Otoño	Invierno	Primavera	Verano			
Grupo PE							
Materia grasa (%)	3.72	3.75	3.66	3.67	0.08	0.24	NS
Materia proteica (%)	3.17	3.04	3.11	2.97	0.04	0.13	*
Lactosa (%)	4.57	4.61	4.67	4.58	0.04	0.13	NS
Extracto seco magro (%)	8.52	8.42	8.45	8.27	0.07	0.22	NS
FPD (x -1 °C)	0.523	0.522	0.520	0.518	0.08	0.23	*
Grupo PC							
Materia grasa (%)	4.00	4.05	4.01	3.81	0.08	0.24	NS
Materia proteica (%)	3.38	3.18	3.27	3.18	0.04	0.12	*
Lactosa (%)	4.61	4.67	4.68	4.66	0.03	0.08	NS
Extracto seco magro (%)	8.85	8.63	8.67	8.58	0.06	0.17	*
FPD (x -1 °C)	0.528	0.529	0.524	0.524	0.00	0.00	NS
Grupo EH							
Materia grasa (%)	3.82	3.85	3.87	3.93	0.05	0.16	NS
Materia proteica (%)	3.19	3.26	3.31	3.23	0.05	0.14	NS
Lactosa (%)	4.62	4.85	4.81	4.80	0.02	0.06	*
Extracto seco magro (%)	8.72	8.77	8.83	8.77	0.06	0.19	NS
FPD (x -1 °C)	0.527	0.528	0.524	0.524	0.00	0.00	NS
Grupo EH-EM							
Materia grasa (%)	3.95	3.78	3.64	3.67	0.05	0.14	**
Materia proteica (%)	3.41	3.32	3.26	3.26	0.03	0.10	*
Lactosa (%)	4.80	4.83	4.82	4.80	0.24	0.72	NS
Extracto seco magro (%)	9.05	8.90	8.75	8.83	0.03	0.10	***
FPD (x -1 °C)	0.529	0.530	0.526	0.526	0.00	0.01	***
Grupo EM							
Materia grasa (%)	3.73	3.76	3.50	3.43	0.23	0.69	NS
Materia proteica (%)	3.38	3.37	3.27	3.25	0.05	0.14	NS
Lactosa (%)	4.83	4.85	4.86	4.86	0.02	0.06	NS
Extracto seco magro (%)	9.03	9.00	8.82	8.87	0.06	0.17	*
FPD (x -1 °C)	0.528	0.529	0.526	0.527	0.00	0.00	*

PE: pastoreo (ecológico); PC: pastoreo (convencional); EH: ensilaje hierba; EH-EM: ensilajes hierba y maíz; EM: ensilaje maíz; FPD: punto crioscópico; s.e.m.: error estándar de la media; d.m.s: diferencia mínima significativa entre dos medias de la misma fila ($\alpha=0.05$); P: significación del test F en el ANOVA. NS: $P>0.05$; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$;

A pesar de la uniformidad de la dieta a lo largo del año en los grupos de alimentación con dietas completas a base de ensilajes, se observaron diferencias significativas entre las medias respectivas para distintas variables de composición fisicoquímica de la leche. En el grupo EH el contenido en LACT de la muestra de invierno (4.85%) fue superior a la de otoño (4.62%), En el grupo EH-EM las muestra de leche de otoño tuvo contenidos significativamente más elevados en MG, MP y ESM comparados con la muestra de primavera y de verano (3.95 vs. 3.64 y 3.67% para MG, 3.41 vs. 3.26 y 3.26 % para MP

y 9.05 vs. 8.75 y 8.83% para ESM) y el valor del punto crioscópico de la leche fue significativamente más alto en primavera y verano (-0.527 y -0.526 °C) comparado con otoño-invierno (-0.529 °C en ambos casos). En el grupo basado en ensilaje de maíz el contenido en ESM de las muestras de leche del otoño (9.03%) fue significativamente superior que el de las muestras de primavera y el punto crioscópico de la leche fue más alto en las muestras de primavera comparado con las de invierno (-0.526 y -0.529 °C, respectivamente). En resumen, los cambios estacionales en la composición fisicoquímica de la leche se producen, en los distintos sistemas de alimentación, por causas de cambios en la alimentación en las explotaciones de pastoreo y por cambios ligados a factores ambientales y otros desconocidos que afectan a todos los grupos en mayor o menor medida, confirmandose la tendencia a una depresión del contenido en sólidos de la leche en primavera-verano, en línea con los resultados del LIGAL (Lorenzana *et al.*, 2017; Lorenzana *et al.*, 2018) y a un aumento del punto crioscópico, más marcado para la leche de vacas que pastorean.

Se destaca que la leche del sistema de pastoreo tiene una concentración de nutrientes inferior al resto de los sistemas de alimentación en particular en los contenidos de MP, LACT y ESM y presentando el punto crioscópico más alto de todos los grupos. El contenido graso es también de los más bajos, pero la calidad de la grasa es superior, como se verá más adelante.

4.3.7.2. Perfil de ácidos grasos de la leche e índices de calidad de los lípidos

En la Tabla 4.17 se exponen los valores medios de los cinco grupos de explotaciones para la composición de AG de la leche. Como puede observarse, el sistema de alimentación modificó substancialmente el perfil de AG de la leche, con un menor efecto de la época de muestreo y manteniéndose las diferencias relativas entre los diferentes grupos de explotaciones para las diferentes variables a tenor de la no significación de la interacción entre el sistema de alimentación y el momento de muestreo.

La leche ecológica mostró valores medios significativamente inferiores a los del resto de los grupos en cuanto al contenido de AG saturados (67.0 vs. 68.9-69.2% AGt), del ratio omega-6/omega-3 (1.50 vs. 1.85-3.93), del índice hipo-hipercolesterolémico (0.59 vs. 0.51-0.54) y del índice trombogénico (2.64 vs. 3.04-3.17), siendo significativamente superiores las proporciones (en %AGt) de los AG transvaccénico (3.12 vs. 2.26-1.10 %), alfa-linolénico (0.96 vs. 0.73-0.39 %), omega-3 total (1.24 vs. 1.01-0.72 %), ácido

linoleico conjugado (CLA, isómeros *c9t11*: 1.25 vs. 0.98-0.54 % y CLA total: 1.42 vs. 1.13-0.68 %) y el ratio entre los isómeros *t11* y *t10* del C18:1 (*t11/t10* C18:1, 14.4 vs. 10.6-2.2%), indicando claramente un perfil de AG más saludable para la leche del grupo PE vs. PC, EH, EH-EM y EM.

Tabla 4.17.- Principales agrupaciones de AG de la leche e índices de calidad de los lípidos

	Grupo de explotaciones					<i>s.e.m.</i>	<i>d.m.s.</i>	Significación (<i>P</i>)		
	PE	PC	EH	EH-EM	EM			<i>G</i>	<i>E</i>	<i>GxE</i>
<i>n</i>	24	20	16	20	20					
Grupos de AG más importantes (% AGt)										
SFA	67.05	69.26	69.37	69.82	68.99	0.714	2.021	*	*	NS
MUFA	27.39	25.88	25.89	25.61	25.97	0.611	1.727	NS	NS	NS
PUFA	4.49	3.93	3.88	3.75	4.25	0.131	0.371	***	*	NS
SCFA	9.7	9.6	9.4	9.1	8.9	0.14	0.39	***	**	NS
MCFA	19.3	19.1	20.2	21.4	21.0	0.42	1.18	***	NS	NS
FA16	30.0	34.1	32.2	33.6	33.7	0.76	2.14	***	*	NS
LCFA	40.9	37.1	38.2	35.9	36.4	0.90	2.55	***	NS	NS
TVA	3.12	2.26	1.60	1.17	1.10	0.214	0.604	***	*	NS
LA	1.46	1.43	1.81	1.94	2.42	0.085	0.240	***	NS	NS
ALA	0.96	0.73	0.57	0.43	0.39	0.108	0.307	***	NS	NS
CLAc9t11	1.25	0.98	0.69	0.57	0.54	0.083	0.235	***	*	NS
CLA total	1.42	1.13	0.84	0.70	0.68	0.086	0.243	***	*	NS
Omega6	1.82	1.79	2.19	2.30	2.84	0.090	0.255	***	NS	NS
Omega3	1.24	1.01	0.84	0.75	0.72	0.035	0.098	***	*	NS
Ratios de AG										
Omega6/Omega3	1.50	1.85	2.65	3.16	3.93	0.118	0.333	***	*	NS
<i>t11/t10</i> (C18:1)	14.42	10.63	6.06	3.45	2.22	0.918	2.598	***	NS	NS
Índices de calidad de los lípidos										
<i>h_H</i>	0.59	0.51	0.54	0.51	0.53	0.021	0.060	*	NS	NS
IA	2.47	2.75	2.74	2.87	2.77	0.098	0.278	*	*	NS
IT	2.64	3.04	3.07	3.17	3.12	0.093	0.262	***	*	NS

PE: pastoreo (ecológico); PC: pastoreo (convencional); EH: ensilaje hierba; EH-EM: ensilajes hierba y maíz; EM: ensilaje maíz; *s.e.m.*: error estándar de la media; *d.m.s.*: diferencia mínima significativa entre dos medias de la misma fila ($\alpha=0.05$); *P*: significación del test F en el ANOVA. NS: $P>0.05$; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$; *G*: grupo; *E*: estación del año; *n*: número de observaciones; AG: ácidos grasos; AGt: total de AG; SFA: AG saturados; MUFA: AG monoinsaturados; PUFA: AG poliinsaturados; SCFA: AG de cadena corta (4-8 C); MCFA: AG de cadena media (10-15 C); FA16: AG de 16 C; LCFA: AG de cadena larga (>16 C); LA: ácido linoleico; ALA: AG alfa-linolénico; CLA: ácido linoleico conjugado; Omega6: Σ AG de la serie omega-6; Omega3: Σ AG de la serie omega-3; *h_H*: ratio hipo-hipercolesterolemico; IA: índice aterogénico; IT: índice trombogénico.

Para la leche de explotaciones que realizan pastoreo en el sistema convencional, comparada con la producida en las explotaciones que alimentan al ganado permanentemente estabulado con raciones completas a base de ensilajes, las proporciones (en % AGt) de TVA (2.26 vs. 1.60-1.10%), de ALA (0.73 vs. 0.57-0.39 %), de omega-3 total (1.01 vs. 0.84-0.72%), de CLAc9t11 (0.98 vs. 0.69-0.54%) y de CLA total (1.13 vs. 0.84-0.68%) así como del ratio *t11/t10* C18:1 (10.6 vs. 6.0-2.2)

fueron significativamente más elevados y el ratio omega-6/omega-3 (1.85 vs. 2.65-3.93) significativamente más bajo, indicando asimismo un mejor perfil comparativo del perfil graso de la leche del grupo PC vs. EH, EH-EM y EM.

Cuando se compara el perfil graso de la leche de las explotaciones que basan la alimentación en ensilaje de hierba con el correspondiente a la explotaciones que alimentan con ensilajes de maíz, se observaron diferencias significativas en cuanto a un mayor contenido en ALA (0.57 vs. 0.43-0.39 %AGt), un mayor valor del ratio t11/t10 C18:1 (6.06 vs. 3.45-2.22) y un valor más bajo del ratio omega-6/omega-3 (2.65 vs. 3.15-3.93), indicando una mejora relativa del perfil de AG de la leche del grupo EH vs. EH-EM y EH.

Las explotaciones que basaban la alimentación del rebaño en ensilajes de hierba y de maíz, comparadas con las del grupo en la que predominaba el ensilaje de maíz en las mezclas, presentaban, de media, un menor valor de LA (1.94 vs. 2.42% AGt), de omega-6 total (2.30 vs. 2.84% AGt) y del ratio omega-6/omega-3 (3.16 vs. 3.93) sin otras diferencias substanciales en el perfil de AG, mostrando un efecto positivo de la inclusión parcial de ensilaje de hierba en las mezclas completas a base de ensilaje de maíz sobre el perfil graso de la leche, a juzgar por el significativo menor valor de la relación entre los AG omega-6 y omega-3.

En la Tabla 4.18 se muestran los valores medios de los AG individuales obtenidos en los cromatogramas de la grasa láctea para los distintos grupos, siendo de destacar que la proporción de AG de cadena corta (<10 C) fue significativamente superior en la leche de pastoreo comparada con la de los grupos de ensilaje de maíz mientras que, inversamente, el valor de los AG de cadena media (10-15 C) fue significativamente superior en estas últimas comparadas con las primeras y que la proporción de C16 y de AG de cadena larga (>16 C) fue significativamente inferior y superior, respectivamente, en la leche de pastoreo ecológico comparado con la del resto de los grupos.

Se destaca que la interacción entre sistema de alimentación y época del año no fue significativa para la mayor parte de los AG, indicando que el efecto del sistema de alimentación sobre el perfil de AG individuales de la leche se mantiene a lo largo de los distintos momentos de muestreo. Con todo, analizando por separado para cada grupo la variabilidad estacional de los principales grupos de AG de la leche (Tabla 4.19), se observa un comportamiento diferente en tres grupos de explotaciones: a) en las explotaciones de pastoreo ecológico, la leche mantiene estable a lo largo del año los

contenidos de SFA, MUFA, PUFA, CLA total, omega-6, omega-3 y las ratios omega6/omega-3 y $t11-t10$ C18:1, sin una tendencia definida entre estaciones; b) en los sistemas basados en ensilajes, se observa una tendencia hacia menores valores en la leche de SFA y mayores de PUFA, CLA total, omega-3 y del ratio $t11-t10$ C18:1, sobre todo a partir del muestreo de invierno, aunque sin diferencias estadísticamente significativas entre estaciones, pudiendo ser atribuidos estos cambios a la introducción en la dieta de los ensilajes de hierba de primer corte cosechados a comienzos de primavera y c) en las explotaciones de pastoreo que siguen un sistema convencional, se observa un efecto significativo de la estación sobre la mayor parte de los grupos de AG, salvo para el valor de omega-6, ligado claramente a una mayor disponibilidad de pastos frescos durante la primavera. Así, en el grupo PC, el contenido medio (%AGt) en SFA de las muestras de leche se reduce desde 70.2 y 71.8% en otoño e invierno a 66.1% en primavera y 68.9% en verano, el de PUFA es significativamente más alto en la leche de primavera-verano (4.5 y 4.0%) que en la de otoño-invierno (3.8 y 3.4%), el de CLA total de la leche de primavera (1.49%) prácticamente duplica al de la leche de invierno (0.77%), el de omega-3 total sigue la misma tendencia (1.18% en primavera y 0.84% en invierno), el ratio omega-6/omega-3 de la leche de primavera (1.58) es el más bajo de la estación y significativamente diferente del de la leche de verano (2.22) y, a la inversa, el ratio $t11-t10$ C18:1 alcanza en las muestras de leche de verano su máximo valor en este grupo (14.9) significativamente superior al de las muestras de leche del invierno (6.3). Con lo cual estos resultados indican que la mejora del perfil graso de la leche observada por el pastoreo ecológico sobre el resto de los grupos, la del pastoreo convencional sobre los sistemas de alimentación de raciones completas a base de ensilajes para animales estabulados, la del sistema basado en ensilajes de hierba sobre los de ensilaje de maíz y la del sistema que combina ensilajes de hierba y de maíz sobre el que utiliza masivamente ensilaje de maíz, se mantiene en este orden independientemente del momento del año en que se realice la toma de muestras.

Tabla 4.18.- Perfil de AG individuales de la leche

	Grupo de explotaciones					s.e.m.	d.m.s.	Significación (P)		
	PE	PC	EH	EH-EM	EM			G	E	GxE
n	24	20	16	20	20					
AG individuales (%AGt)										
C4:0	6.09	6.01	5.72	5.41	5.27	0.089	0.252	***	*	NS
C6:0	2.44	2.42	2.46	2.43	2.36	0.042	0.120	NS	**	NS
C8:0	1.18	1.18	1.26	1.27	1.26	0.025	0.070	*	*	NS
C10:0	2.49	2.51	2.83	2.98	3.01	0.071	0.201	***	*	NS
C10:1c9	0.06	0.06	0.07	0.07	0.07	0.002	0.006	*	NS	NS
C11:0	0.03	0.03	0.05	0.08	0.09	0.005	0.013	***	NS	***
C12:0	2.82	2.88	3.22	3.51	3.56	0.084	0.237	***	**	NS
C13:0	0.08	0.08	0.10	0.14	0.15	0.006	0.017	***	NS	NS
C14:0iso	0.16	0.13	0.12	0.11	0.10	0.007	0.020	***	NS	NS
C14:0	10.75	10.60	11.15	11.55	11.09	0.284	0.804	NS	NS	NS
C15:0iso	0.36	0.31	0.29	0.25	0.24	0.011	0.030	***	**	NS
C14:1c9	0.88	0.97	0.95	1.08	1.12	0.028	0.080	***	NS	NS
C15:0aiso	0.56	0.50	0.45	0.45	0.46	0.015	0.044	***	NS	NS
C15:0	1.16	1.06	0.99	1.17	1.17	0.034	0.096	**	NS	NS
C15:1c10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-	-	-	-	-
C16:0	28.36	32.27	30.62	31.87	31.93	0.743	2.101	***	*	NS
C16:1c9n7	1.65	1.86	1.55	1.75	1.72	0.083	0.236	NS	**	NS
C17:0	0.65	0.54	0.47	0.52	0.52	0.014	0.040	***	NS	NS
C18:0	10.50	9.28	10.13	8.60	8.28	0.249	0.706	***	NS	NS
C18:1t6:t9	0.41	0.40	0.46	0.48	0.54	0.025	0.072	**	NS	NS
C18:1t10	0.21	0.21	0.28	0.39	0.67	0.063	0.179	***	NS	NS
C18:1t11	3.12	2.26	1.60	1.17	1.10	0.098	0.277	***	*	NS
C18:1t12	0.28	0.26	0.31	0.33	0.40	0.019	0.053	***	NS	NS
C18:1c9n9	20.26	19.37	20.04	19.51	19.40	0.437	1.236	NS	NS	NS
C18:1c11n7	0.38	0.36	0.43	0.60	0.66	0.036	0.102	***	NS	NS
C18:1c12	0.08	0.08	0.16	0.19	0.26	0.014	0.039	***	***	***
C18:2m6	0.10	0.10	0.10	0.09	0.12	0.019	0.053	NS	***	NS
C18:2cn6	1.46	1.43	1.81	1.94	2.42	0.085	0.240	***	NS	NS
C18:3n6	0.03	0.03	0.03	0.04	0.04	0.002	0.004	***	**	NS
C18:3n3	0.96	0.73	0.57	0.43	0.39	0.034	0.097	***	NS	NS
C20:0	0.22	0.18	0.20	0.16	0.16	0.006	0.017	***	***	NS
CLAc9t11	1.25	0.98	0.69	0.57	0.54	0.083	0.235	***	*	NS
CLAx	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.001	0.002	**	NS	NS
CLAx1	0.17	0.15	0.16	0.13	0.14	0.006	0.018	***	***	NS
C20:1c11n9	0.04	0.03	0.04	0.03	0.03	0.003	0.008	NS	NS	NS
C21:0	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.002	0.005	***	***	NS
C20:2n6	0.02	0.02	0.02	0.02	0.03	0.001	0.003	***	NS	NS
C20:3n6	0.08	0.09	0.13	0.14	0.17	0.010	0.030	***	*	NS
C20:3n3	0.12	0.14	0.16	0.21	0.24	0.006	0.018	***	**	NS
C22:1n9	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-	-	-	-	-
C22:0	0.08	0.06	0.05	0.04	0.03	0.003	0.007	***	***	NS
C20:4n6	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.001	0.004	NS	***	NS
C22:2n6	0.13	0.11	0.09	0.07	0.05	0.005	0.013	***	**	NS
C23:0	0.06	0.04	0.03	0.02	0.02	0.002	0.007	***	NS	NS
C20:5n3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-	-	-	-	-
C24:0	0.09	0.07	0.06	0.05	0.04	0.003	0.009	***	NS	NS
C24:1n9	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.001	0.003	NS	***	NS
C22:5n3	0.15	0.12	0.10	0.08	0.07	0.005	0.013	***	*	NS
C22:6n3	0.02	0.02	0.01	0.02	0.01	0.002	0.007	**	***	NS

PE: pastoreo (ecológico); PC: pastoreo (convencional); EH: ensilaje hierba; EH-EM: ensilajes hierba y maíz; EM: ensilaje maíz; s.e.m.: error estándar de la media; d.m.s: diferencia mínima significativa entre dos medias de la misma fila ($\alpha=0.05$); P: significación del test F en el ANOVA. NS: $P>0.05$; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$; G: grupo; E: estación; n: número de observaciones; AG: ácidos grasos; AGt: total de AG; CLA: ácido linoleico conjugado; CLAx y CLAx1 son isómeros de CLA desconocidos

Tabla 4.19.- Variación estacional del perfil de AG de las muestras de leche

	Época de muestreo				s.e.m.	d.m.s.	P
	Otoño	Invierno	Primavera	Verano			
Grupo PE							
SFA (%AGt)	67.9	66.9	66.0	67.4	1.48	4.38	NS
MUFA (%AGt)	26.5	27.7	28.1	27.2	1.24	3.66	NS
PUFA (%AGt)	4.5	4.4	4.7	4.3	0.24	0.72	NS
CLA_TOT (%AGt)	1.31	1.35	1.74	1.29	0.26	0.77	NS
OMEGA6 (%AGt)	1.92	1.83	1.77	1.79	0.09	0.28	NS
OMEGA3 (%AGt)	1.31	1.24	1.22	1.20	0.08	0.23	NS
Omega6/Omega3	1.49	1.53	1.47	1.51	0.12	0.35	NS
t11/ t10 (C18:1)	12.5	16.0	16.8	12.3	2.70	7.95	NS
Grupo PC							
SFA (%AGt)	70.2	71.8	66.1	68.9	1.11	3.34	*
MUFA (%AGt)	25.2	24.0	28.3	26.1	0.97	2.90	*
PUFA (%AGt)	3.8	3.4	4.5	4.0	0.21	0.63	*
CLA_TOT (%AGt)	1.07	0.77	1.49	1.20	0.17	0.51	*
OMEGA6 (%AGt)	1.73	1.82	1.86	1.74	0.06	0.19	NS
OMEGA3 (%AGt)	0.97	0.84	1.18	1.04	0.09	0.26	*
Omega6/Omega3	1.91	2.22	1.58	1.71	0.14	0.42	*
t11/ t10 (C18:1)	10.0	6.3	14.9	11.3	1.82	5.46	*
Grupo EH							
SFA (%AGt)	70.3	69.1	69.8	68.3	0.89	2.73	NS
MUFA (%AGt)	25.1	26.2	25.4	26.8	0.78	2.40	NS
PUFA (%AGt)	3.7	3.9	3.8	4.0	0.14	0.43	NS
CLA_TOT (%AGt)	0.77	0.70	0.97	0.93	0.08	0.25	NS
OMEGA6 (%AGt)	2.11	2.38	2.03	2.25	0.15	0.45	NS
OMEGA3 (%AGt)	0.87	0.80	0.84	0.85	0.04	0.12	NS
Omega6/Omega3	2.48	2.98	2.47	2.68	0.23	0.72	NS
t11/ t10 (C18:1)	5.8	4.4	7.5	6.6	1.18	3.62	NS
Grupo EH-EM							
SFA (%AGt)	71.4	70.0	69.4	68.5	0.75	2.26	NS
MUFA (%AGt)	24.3	25.6	25.7	26.8	0.76	2.28	NS
PUFA (%AGt)	3.5	3.6	4.0	3.9	0.10	0.29	*
CLA_TOT (%AGt)	0.58	0.67	0.77	0.80	0.04	0.12	*
OMEGA6 (%AGt)	2.22	2.25	2.37	2.34	0.11	0.33	NS
OMEGA3 (%AGt)	0.69	0.68	0.83	0.80	0.05	0.14	NS
Omega6/Omega3	3.38	3.38	2.88	3.02	0.28	0.84	NS
t11/ t10 (C18:1)	3.0	3.2	3.5	4.0	0.66	1.97	NS
Grupo EM							
SFA (%AGt)	70.2	69.7	68.2	67.9	1.83	5.49	NS
MUFA (%AGt)	24.9	25.4	26.5	27.1	1.53	4.57	NS
PUFA (%AGt)	4.1	4.1	4.4	4.3	0.38	1.13	NS
CLA_TOT (%AGt)	0.62	0.62	0.73	0.75	0.05	0.15	NS
OMEGA6 (%AGt)	2.83	2.81	2.93	2.80	0.30	0.91	NS
OMEGA3 (%AGt)	0.68	0.70	0.75	0.75	0.04	0.13	NS
Omega6/Omega3	4.12	4.05	3.87	3.70	0.27	0.82	NS
t11/ t10 (C18:1)	2.2	2.1	2.2	2.5	0.43	1.30	NS

s.e.m.: error estándar de la media; d.m.s: diferencia mínima significativa entre dos medias de la misma fila ($\alpha=0.05$); P: significación del test F en el ANOVA. NS: $P>0.05$; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$; AGt: total de AG; SFA: AG saturados; MUFA: AG monoinsaturados; PUFA: AG poliinsaturados; CLA_TOT: total de isómeros del ácido linoleico conjugado; Omega6: Σ AG de la serie omega-6; Omega3: Σ AG de la serie omega-3

4.3.7.3. Contenido de la leche en antioxidantes liposolubles

El sistema de alimentación modificó significativamente la concentración de vitaminas A y E así como la de xantofilas y carotenos de la leche (Tabla 4.20). La época de muestreo solamente influyó significativamente en la concentración de vitamina E y, en menor medida en la de ϵ -9- β caroteno. Al igual que acontecía para el perfil graso de la leche, el efecto observado entre los distintos grupos de explotaciones para las distintas variables se mantiene a lo largo del año en los diferentes momentos de muestreo, dada la no significación de la interacción entre el grupo al que pertenecen las explotaciones y la época del año donde se toma la muestra.

La concentración de retinol más elevada se observó en la leche del grupo de alimentación basado en ensilajes de hierba (546 $\mu\text{g/L}$), siendo significativamente superior a la de los grupos basados en ensilaje de maíz (474 y 479 $\mu\text{g/L}$ para EH-EM y EM, respectivamente) y a la de pastoreo ecológico (455 $\mu\text{g/L}$), no siendo diferente a la de pastoreo convencional (516 $\mu\text{g/L}$). El contenido en el principal isómero de la vitamina E (α -tocoferol) fue significativamente superior en la leche de pastoreo ecológico (1135 $\mu\text{g/L}$) comparado con la del pastoreo convencional (973 $\mu\text{g/L}$) y ésta a su vez superior a la de los grupos que alimentaban con ensilajes, que mostraron valores medios de 799, 730 y 651 $\mu\text{g/L}$ para EH, EH-EM y EM, siendo el valor de EH significativamente superior al de EM e indicando una tendencia descendiente de la concentración de α -tocoferol en la leche conforme se reducía la proporción de pastos frescos y de ensilaje de hierba de la ración. La evolución del isómero γ -tocoferol de la vitamina E en la leche, cuantitativamente mucho menos importante, siguió una tendencia inversa a la descrita para el isómero mayoritario, descendiendo con el porcentaje de almidón en la dieta, desde valores de 49.1 y 47.5 $\mu\text{g/L}$ en EM y EH-EM, respectivamente, a 36.6 $\mu\text{g/L}$ en EH, 31.3 $\mu\text{g/L}$ en PC y 24.0 $\mu\text{g/L}$ en PE, siendo estos tres últimos significativamente inferiores a los dos primeros, que no se diferenciaron entre sí.

El contenido medio de la leche en compuestos carotenoides siguió, en líneas generales, una tendencia parecida a la descrita para el α -tocoferol en los distintos grupos de explotaciones, siendo superior para la leche de pastoreo y disminuyendo posteriormente conforme se reducía la proporción de ensilaje de hierba en la ración. Los carotenoides con mayor concentración en las muestras de leche fueron, de media, la xantofila luteína y el all-*trans*- β Caroteno. La leche de pastoreo ecológico mostró valores

significativamente más elevados de luteína, zeaxantina y β -criptoxantina (22.1, 1.72 y 2.41 $\mu\text{g/L}$, respectivamente), comparados con los restantes grupos. El valor medio de la concentración de luteína en la leche de las explotaciones que realizan pastoreo en el sistema convencional (16.0 $\mu\text{g/L}$) fue significativamente superior comparado con el de las explotaciones que alimentan permanentemente con ensilajes a animales estabulados y las de zeaxantina y β -criptoxantina (1.24 y 1.84 $\mu\text{g/L}$) fueron también significativamente superiores a las de los grupos que alimentan con ensilaje de maíz. A su vez, la leche del grupo que basa la alimentación en ensilajes de hierba, mostró un valor superior de luteína (10.3 $\mu\text{g/L}$) comparada con la de los dos grupos de ensilaje de maíz (6.2 y 5.3 $\mu\text{g/L}$ para EH-EM y EM, respectivamente).

La leche de las explotaciones de pastoreo mostró una concentración de *all-trans*- β Caroteno (PE: 244 $\mu\text{g/L}$, PC: 212 $\mu\text{g/L}$) significativamente superior a la de las explotaciones que basan la alimentación en ensilajes de hierba y maíz (EH-EM: 126 $\mu\text{g/L}$, EM: 103 $\mu\text{g/L}$), siendo estas últimas significativamente inferiores a la del grupo de ensilaje de hierba (EH: 193 $\mu\text{g/L}$) que no se diferenció a su vez del valor de PC. La concentración de los carotenoides menores de la leche, *c9*- β caroteno y *c13*- β caroteno, siguió una tendencia semejante a la descrita para el carotenoide mayoritario.

Tabla 4.20.- Composición de la leche en vitaminas A y E y carotenoides ($\mu\text{g/L}$)

	Grupo de explotaciones					<i>s.e.m.</i>	<i>d.m.s.</i>	Significación (<i>P</i>)		
	PE	PC	EH	EH-EM	EM			<i>G</i>	<i>E</i>	<i>GxE</i>
<i>n</i>	24	20	16	20	20					
Vitaminas $\mu\text{g/L}$										
Retinol	455	516	546	474	479	19.26	54.49	*	*	NS
α -Tocoferol	1135	973	799	730	651	44.54	125.99	***	***	NS
γ -Tocoferol	24.0	31.3	36.6	47.5	49.1	1.67	4.73	***	***	NS
Carotenoides $\mu\text{g/L}$										
Luteína	22.1	16.0	10.3	6.29	5.02	0.98	2.76	***	NS	NS
Zeaxantina	1.72	1.24	1.02	0.64	0.54	0.09	0.25	***	NS	NS
β -Criptoxantina	2.41	1.84	1.70	1.35	1.24	0.16	0.45	***	NS	NS
<i>all-trans</i> - β caroteno	244	212	193	126	103	12.73	35.99	***	NS	NS
<i>c9</i> - β caroteno	1.64	1.20	1.31	0.51	0.48	0.15	0.43	***	*	NS
<i>c13</i> - β caroteno	9.01	7.56	6.72	3.69	3.04	0.53	1.50	***	NS	NS

PE: pastoreo (ecológico); PC: pastoreo (convencional); EH: ensilaje hierba; EH-EM: ensilajes hierba y maíz; EM: ensilaje maíz; *s.e.m.*: error estándar de la media; *d.m.s.*: diferencia mínima significativa entre dos medias de la misma fila ($\alpha=0.05$); *P*: significación del test F en el ANOVA. NS: $P>0.05$; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$; G: grupo; E: estación del año; n: número de observaciones

La leche de las vacas de los grupos alimentados con ensilajes de maíz mostraron valores inferiores de *c9*- β caroteno y de *c13*- β caroteno a las alimentadas con ensilajes de hierba y pastos frescos, con valores medios, respectivamente, de 1.64 y 9.01 $\mu\text{g/L}$ para PE, de

1.20 y 7.56 $\mu\text{g/L}$ para PE, de 1.31 y 6.72 para EH, de 0.51 y 3.69 $\mu\text{g/L}$ para EH-EM y de 0.48 y 3.04 $\mu\text{g/L}$ para EM.

Los resultados obtenidos en las explotaciones muestran, globalmente, un mejor perfil de antioxidantes liposolubles para la leche de pastoreo, en particular para la ecológica, evidenciando el efecto positivo del consumo de pastos frescos sobre la concentración de vitamina E y carotenoides de la leche. Por otra parte, la inclusión de ensilado de hierba en la dieta parece también mejorar el perfil antioxidante de la leche en comparación con un mayor uso de ensilaje de maíz en las mezclas completas. El análisis del efecto de la estación sobre la composición en antioxidantes liposolubles de la leche, realizado por separado para los distintos grupos, mostró una marcada diferencia entre los valores de vitaminas de las muestras de leche de otoño e invierno comparadas con las de primavera y otoño (Tabla 4.21). En las muestras de leche procedentes de pastoreo ecológico, la concentración de retinol en otoño fue más alta que la de las muestras de primavera y verano (527 vs. 429 y 390 $\mu\text{g/L}$) y las de α -tocoferol y γ -tocoferol fueron significativamente más altas en otoño e invierno que en primavera (1481 y 1212 vs. 820 $\mu\text{g/L}$ para α -tocoferol y 27.9 y 30.6 vs. 16.9 $\mu\text{g/L}$ para γ -tocoferol). También en este grupo las muestras de leche tuvieron valores medios de *all-trans*- β -Caroteno más elevados en otoño que en verano (301 vs. 193 $\mu\text{g/L}$, respectivamente). Esta tendencia se mantuvo en las muestras de leche procedentes del sistema de pastoreo convencional, donde los valores de los dos isómeros de la vitamina E fueron significativamente más elevados en las muestras de otoño e invierno comparados con las de primavera y verano, con valores medios, respectivamente, de 1122, 1121, 818 y 833 $\mu\text{g/L}$ para α -tocoferol y de 39.7, 44.8, 18.1 y 22.7 $\mu\text{g/L}$ para γ -tocoferol. En este grupo, los valores más altos de retinol se observaron en primavera (579 $\mu\text{g/L}$), siendo significativamente superiores a los de verano (431 $\mu\text{g/L}$).

En los grupos que alimentaban a las vacas con ensilajes la concentración de retinol de la leche no fue diferente entre estaciones, repitiéndose en todos los casos la mayor concentración en vitamina E de la leche en las muestras de otoño e invierno, en comparación con la de las muestras de primavera y verano. En todas las estaciones, el contenido de α -tocoferol de las muestras de leche fue superior para los sistemas de pastoreo, siendo los valores de PE superiores a los de PC y manteniéndose una tendencia descendente con la substitución del pasto fresco por ensilaje de hierba y la substitución del ensilaje de hierba por el de maíz. La tendencia observada para la

concentración del isómero minoritario γ -tocoferol fue a la inversa, incrementándose su contenido de forma casi proporcional a la concentración de almidón en la ración.

Tabla 4.21.- Variación estacional del perfil de vitaminas A, E y principales carotenoides de las muestras de leche

	Época de muestreo				<i>s.e.m.</i>	<i>d.m.s.</i>	<i>P</i>
	Otoño	Invierno	Primavera	Verano			
Grupo: PE							
Retinol	527	472	429	390	28.83	85.06	*
α-Tocoferol	1481	1212	820	1027	104.8	309.1	**
γ-Tocoferol	27.9	30.6	16.9	20.7	2.90	8.55	*
Luteína	25.5	22.2	21.2	19.5	2.16	6.36	NS
all- <i>t</i> -βcaroteno	301	259	222	193	29.2	86.2	*
Grupo: PC							
Retinol	537	519	579	431	28.71	86.06	*
α-Tocoferol	1122	1121	818	833	78.1	234.1	*
γ-Tocoferol	39.7	44.8	18.1	22.7	3.45	10.34	***
Luteína	13.6	13.8	20.4	16.3	2.75	8.24	NS
all- <i>t</i> -βcaroteno	212	237	232	166	25.3	75.9	NS
Grupo: EH							
Retinol	557	504	591	533	51.10	157.47	NS
α-Tocoferol	1064	875	518	739	54.2	167.1	***
γ-Tocoferol	44.5	46.4	24.3	31.0	2.86	8.82	**
Luteína	10.6	8.8	11.7	10.5	1.55	4.77	NS
all- <i>t</i> -βcaroteno	205	179	211	178	21.2	65.5	NS
Grupo: EH-EM							
Retinol	465	447	509	474	31.49	94.42	NS
α-Tocoferol	934	862	571	552	80.0	240.0	*
γ-Tocoferol	58.4	55.4	38.0	38.4	3.12	9.36	***
Luteína	5.3	4.9	6.2	8.8	0.49	1.47	***
all- <i>t</i> -βcaroteno	122	124	127	132	13.5	40.6	NS
Grupo: EM							
Retinol	474	506	474	464	37.04	111.05	NS
α-Tocoferol	855	822	442	484	68.1	204.1	**
γ-Tocoferol	60.1	61.5	37.2	37.6	2.88	8.65	***
Luteína	4.2	5.2	4.7	6.0	0.75	2.25	NS
all- <i>t</i> -βcaroteno	99.0	115.3	98.3	100.9	21.7	64.9	NS

PE: pastoreo (ecológico); PC: pastoreo (convencional); EH: ensilaje hierba; EH-EM: ensilajes hierba y maíz; EM: ensilaje maíz; s.e.m.: error estándar de la media; d.m.s: diferencia mínima significativa entre dos medias de la misma fila ($\alpha=0.05$); P: significación del test F en el ANOVA. NS: $P>0.05$; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$; n: número de observaciones

4.3.8. Evaluación de la capacidad de determinar la presencia de pastos frescos y de su proporción en la dieta de las vacas a partir de la composición de ácidos grasos y antioxidantes liposolubles de la leche

Utilizando la base de datos de las 100 observaciones de las que se sabía la composición de la MS de la dieta consumida por las vacas y la composición de la leche, se evaluó la posibilidad de predecir la presencia de pastos frescos en la dieta de las vacas a partir de

los parámetros de composición fisicoquímica, perfil de AG y composición de vitaminas A y E y carotenoides de las muestras de leche.

4.3.8.1. Análisis discriminante para clasificar las muestras de leche como procedentes o no de dietas con pastos frescos

El total de las muestras se clasificó en dos grupos, dependiendo de si en la dieta de las vacas había o no presencia de hierba fresca (SI pasto=1; NO pasto=0). El análisis discriminante paso a paso permitió seleccionar las variables que mejor explicaban el origen de las muestras de leche para encuadrarlas en uno de los dos grupos, siendo seleccionados el contenido de luteína (LUTEIN, $\mu\text{g/kg}$ de leche) y el ratio entre el total de los AG omega-6/omega-3 (ωRATIO) como únicas variables discriminatorias. Ambas fueron altamente significativas ($P < 0.001$), con un coeficiente de determinación (R^2) de 0.593 para LUTEIN y de 0.598 para omega6/omega-3. Posteriormente, se aplicaron las ecuaciones discriminantes al conjunto de las 100 observaciones mediante un procedimiento de validación cruzada, de forma que en cada bucle se retiraba una observación, se recalculaban las ecuaciones prescindiendo de esa observación y se obtenía la predicción de su pertenencia o no a uno de los dos grupos, anotando la asignación como correcta o incorrecta, en función del resultado, siguiendo el proceso hasta completar el análisis para el conjunto de las observaciones.

Los valores medios de los parámetros de las ecuaciones discriminantes creadas fueron:

Para el grupo de NO pasto, $y = -20.50 + 0.933 \times \text{LUTEIN} + 10.52 \times \omega\text{RATIO}$

Para el grupo de SI pasto, $y = -19.11 + 1.270 \times \text{LUTEIN} + 8.160 \times \omega\text{RATIO}$

El resultado del proceso de validación cruzada de los modelos de asignación de pertenencia a uno de los dos grupos a partir de la composición de las muestras de leche en luteína y de la relación omega6/omega3 se indica en la Tabla 4.22, donde se puede observar que el porcentaje de asignación correcta al grupo de NO pasto es del 93% (de las 57 muestra de este grupo el número de aciertos fue de 53) y el de asignación correcta al grupo de SI pasto es algo más bajo, del 90.7% (de las 43 muestras de este grupo 39 estaban correctamente asignadas). Se demuestra, por tanto, la capacidad de trazar el origen alimentario de las muestras de leche en base a su composición, en cuanto al consumo o no de pastos frescos por las vacas. Sin embargo, deben hacerse dos precisiones en cuanto a la utilidad práctica de esta metodología: en primer lugar, se requieren dos cromatografías sobre las muestras de leche, que requieren tiempo y tienen

un coste relativamente elevado, cercano a los 100 euros por cromatografía y muestra y, en segundo lugar, sería deseable ampliar el número de muestras en la base de datos para recoger mayor variabilidad en cuanto a dietas, razas y ambientes.

Tabla 4.22.- Resultado del proceso de validación cruzada de la aplicación de las ecuaciones lineares discriminantes

Grupo asignado por la ecuación	Grupo de pertenencia (valor real)		Total
	NO pasto	SI pasto	
NO pasto	n=53 (93.0%)	n=4 (7%)	n=57 (100%)
SI pasto	n=4 (9.3%)	n=39 (90.7%)	n=43 (100%)
Total	n=57 (57%)	n=43 (43%)	n=100 (100%)

4.3.8.2. Estimación del porcentaje de pasto fresco en la dieta

Fue realizado otro ejercicio para evaluar la capacidad de estimar la contribución del pasto fresco a la MS de la dieta consumida por las vacas cuando este valor se toma como una variable continua. A partir de los valores de composición de la dieta se efectuó un análisis de regresión lineal paso a paso para determinar la relación entre el porcentaje de pasto fresco en la dieta de las vacas, como variable dependiente y el perfil de AG de la leche como variables independientes. Los valores de porcentajes se transformaron mediante la función $\arcsen\sqrt{x}$. La primera variable escogida fue el ratio $t11/t10$ C18:1, que explicó un 68.0% de la varianza de la variable dependiente y la segunda fue el contenido en ALA, que explicó un 3.6% de varianza adicional. Mediante análisis de regresión sobre ambos predictores se obtuvo la siguiente ecuación:

$y = -20.84 (\pm 4.28) + 31.32 (\pm 8.95) \times X1 + 2.73 (\pm 0.37) \times X2$, con $R^2 = 0.71$ y $RSD \pm 16.1$, donde y = % de pasto fresco en la MS de la ración; $X1$ = proporción de ALA (% AGt); $X2$ = valor del ratio $t11/t10$ C18:1, siendo altamente significativos ($P < 0.001$) todos los parámetros de la ecuación.

Aunque el error mínimo de predicción (16.1%) es relativamente alto para que esta ecuación pudiese servir en la práctica para estimar el porcentaje de pasto fresco en la ración, se confirma que tanto el ratio $t11/t10$ C18:1 como ALA son los mejores indicadores, en nuestra base de datos, de la proporción de pasto fresco en la dieta de las vacas.

4.4. DISCUSIÓN

4.4.1. Producción de leche y eficiencia

Los índices técnicos medios de los distintos grupos de explotaciones reflejan la existencia de un gradiente de intensificación productivo desde los grupos de pastoreo hasta el de alimentación con raciones completas basado en ensilaje de maíz, con valores crecientes de carga ganadera, producción de leche por ha de SAU y nivel de almidón en la MS de la dieta. El consumo de concentrado más elevado se produjo, sin embargo, en el grupo que alimenta con raciones completas basado en ensilaje de hierba, si bien el comparativamente más bajo valor proteico del mismo, en relación a los grupos de ensilaje de maíz, indica una proporción superior de cereales y menor de materias primas proteicas en su composición, para compensar la falta de carbohidratos no estructurales en la hierba ensilada.

Comparados con los datos de gestión de un grupo de explotaciones de Galicia y la Cornisa Cantábrica, referidos al período 2014-2016 Sineiro *et al.* (2016) indican consumos medios de concentrado de 375 g/L, superiores a los de los distintos grupos de nuestra muestra y una producción media de leche/ha de SAU de 18.8 toneladas, semejante a la del grupo EH-EM de nuestra muestra pero inferior al del grupo EM (18.2 y 20.2 t leche/ha). Los últimos datos oficiales de gestión de explotaciones lecheras de Galicia, publicados en 2010 y referidos al año 2008 (Barbeyto y López-Garrido, 2010) indicaban un consumo medio de concentrado de 370 g/L de leche, oscilando entre los 330 g/L de las explotaciones de cabeza y los 430 g/L de las del grupo de cola.

La relación entre la MS consumida y la cantidad de leche o de sólidos de leche producida da una idea de la eficiencia del uso de nutrientes en la alimentación y, a pesar de sus limitaciones, constituye una herramienta útil para realizar comparaciones entre explotaciones o entre sistemas de producción (de Ondarza y Tricarico, 2017), habiéndose sugerido que la eficiencia en rebaños bien manejados y saludables debería estar en el rango de 1.3 a 1.5 kg de leche/kg MS ingerida. Sin embargo la eficiencia varía ampliamente con la calidad de los forrajes, el número de pastos, el estado de lactación y el potencial productivo de las vacas, entre otros factores, indicando Hutjens (2005) valores de entre 1.4 y 1.6 kg de leche /Kg MS para vacas en el intervalo 150-225 días en leche y señalando que valores inferiores a 1.3 para vacas con menos de 200 días de lactación podrían ser indicativos de anomalías en la alimentación. Para una muestra de explotaciones de Galicia y la Cornisa Cantábrica, Domínguez (2017) calculó un

valor medio de eficiencia de 1.46 kg de leche/kg MS consumida, variando este valor entre 1.4 a 1.6 kg/kg y situándose dentro del rango de valores considerado como normal para vacas de leche alimentadas con mezclas completas.

Coleman *et al.* (2010) en un experimento con vacas de alto mérito genético en pastoreo de praderas de Irlanda observaron valores de eficiencia de 80-90 g de sólidos (proteína+grasa) de la leche por kg de MS ingerida. Los valores medios de eficiencia de las explotaciones de pastoreo (alrededor de 1.0 kg de leche/kg MS y de 72 g de sólidos) están lejos de las indicaciones de los anteriores autores, mostrando amplias posibilidades de mejora, a este respecto, mientras que para la explotaciones que alimentan con raciones completas, dichos valores oscilaron entre 1.27 kg de leche/kg MS y 91.0 g de sólidos/kg MS en EH y los 1.40 kg de leche/kg MS y 104 g de sólidos/kg MS para EM. Como objetivo para explotaciones lecheras con distintos sistemas de alimentación, Little (2015) indica valores de eficiencia (en g de sólidos/kg MS) de 68-75 g/kg para explotaciones que incluyen dietas de pasto y forrajes conservados con bajo uso de concentrado, de 83-90 g/kg para este mismo sistema con un uso medio de concentrado y de 110-120 g/kg para explotaciones más intensivas que alimentan con raciones completas de ensilados y mayor uso de concentrados, mucho más próximos a los valores obtenidos en nuestra muestra de explotaciones. En un experimento para evaluar por parte de los consumidores la aceptabilidad de la leche rica en CLA procedente del pastoreo, Khanal *et al.* (2005) alimentó a un grupo de vacas Holstein con raciones completas a base de ensilaje de maíz y alfalfa (51% MS) y alto nivel de concentrado (49% de la MS), a otro con sólo pasto y a un tercero con pasto suplementado con el 14% de concentrado, obteniendo valores de eficiencia de transformación de la MS en leche de 1.31, 1.17 y 1.19 kg de leche/kg MS ingerida, respectivamente. Por otra parte, en distintos experimentos realizados en el CIAM, cuyos resultados se compendian en Veiga (2019), con vacas estabuladas alimentadas con raciones completas a base de ensilajes de hierba y de maíz con el 25% de concentrados, se obtuvieron valores medios de eficiencia (en kg de leche/kg MS) de 1.51 a 1.64 para vacas tras el pico de lactación y de 1.24 a 1.26. En otros tres ensayos con vacas en pastoreo diurno suplementadas con una mezcla de ensilaje de maíz (7 kg MS/vaca) y concentrado (2.5 kg MS/vaca) se obtuvieron valores de eficiencia de 1.36-1.40 en el pastoreo de primavera, de 1.26 a 1.31 en el pastoreo de primavera-verano y de 1.11 a

1.21 en el pastoreo de finales de verano-comienzos de otoño, siendo los días en leche en los tres ensayos de, respectivamente, de 60 a 150, de 150 a 230 y de 150 a 230.

4.4.2 Calidad de los forrajes

Un estudio realizado en el año 2012 en una muestra de explotaciones lecheras ecológicas y convencionales y resumido en la presentación de Pereira-Crespo *et al.* (2014) permite establecer comparaciones del valor nutricional de las muestras de hierba fresca, de ensilajes de hierba y de maíz y de henos de las explotaciones ecológicas y convencionales con los resultados obtenidos en el presente trabajo. Como puede observarse en la Tabla 4.23, el valor medio de digestibilidad de las muestras de hierba en el estudio de 2012 (DMO: 67.5 y 67.7% para las explotaciones ecológicas y convencionales, respectivamente) fue más bajo que el observado en el presente trabajo, donde la DMO se mantuvo por encima del 70% salvo en el pasto de verano. El contenido en PB de las muestras de 2012 fue de 18.3 y 18.8% MS, inferior a los valores del presente trabajo para las muestras de primavera y otoño, pero superior a las de verano e invierno. Se destaca, en todo caso, las escasas diferencias entre el valor nutricional de los pastos ecológicos y convencionales en ambos trabajos. Los henos están escasamente representados en la muestra de 2012, pero en todo caso, los resultados coinciden con los resultados del presente trabajo en lo relativo a su baja digestibilidad (DMO 43-45 %) y contenidos de proteína (PB 5.3-7.1% MS), sin diferencias apreciables entre explotaciones ecológicas y convencionales. Los resultados ponen de manifiesto que, en las condiciones de las explotaciones lecheras gallegas, cuando se dan las condiciones adecuadas en el mes de julio para el secado natural del forraje en el campo al nivel requerido para su conservación de forma segura (MS no inferior al 85%), el estado de madurez de la hierba está muy avanzado, su valor nutricional es muy bajo y limita su papel a poco más que ser una fuente de fibra para asegurar el correcto funcionamiento del rumen de las vacas.

En cuanto a los ensilajes de maíz, los valores de MS fueron más elevados en el estudio de 2012, sobre todo en el caso de las explotaciones ecológicas, sugiriendo una fecha de corte algo más tardía, con mayores contenidos de almidón y una digestibilidad algo más elevada que la observada para este forraje en el trabajo actual.

La composición media de los ensilajes de hierba en el primer estudio mostraban un mayor contenido en fibra de las muestras procedentes de explotaciones ecológicas, con menor digestibilidad y contenido en proteína, lo cual sugería que la hierba se cortaba en

un estado más avanzado que en las explotaciones convencionales, si bien el contenido en MS y la calidad de conservación era semejante. Los resultados del presente estudio corroboran esa observación, con mayores valores de fibra y menores de PB y DMO para los ensilajes de hierba de las explotaciones ecológicas, comparados con las que realizan pastoreo convencional.

Tabla 4.23.- Valor nutricional de forrajes de explotaciones lecheras ecológicas y convencionales en el estudio de Pereira-Crespo *et al.* (2014)

Hierba fresca							
Grupo	n	Composición (%MS)					DMO (%)
		MO	PB	FAD	FND	CSA	
Ecológica	22	90.6	18.3	27.4	50.9	11.7	67.5
Convencional	15	90.9	18.8	26.3	51.2	12.5	67.7

Ensilajes de maíz								
Grupo	n	MS (%)	Composición (%MS)				DMO (%)	
			MO	PB	FAD	FND		AMD
Ecológica	11	37.6	96.5	6.8	22.7	42.9	30.7	70.8
Convencional	85	33.6	96.4	6.6	23.7	42.7	29.8	71.0

Henos							
Grupo	n	Composición (%MS)					DMO (%)
		MO	PB	FB	FAD	FND	
Ecológica	4	94.8	5.3	42.9	36.0	72.6	43.5
Convencional	3	93.9	7.1	44.1	39.0	75.8	40.0

Ensilajes de hierba									
Grupo	n	MS (%)	Composición (%MS)				DMO (%)	Fermentación	
			MO	PB	FAD	FND		pH	Láctico (%MS)
Ecológica	13	33.0	91.6	11.4	36.8	55.6	62.5	4.60	4.5
Convencional	75	31.7	90.4	12.5	35.6	53.6	66.0	4.58	5.1

MS: Materia seca; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; CSA: carbohidratos solubles en agua; FAD: fibra ácido detergente; FND: fibra neutro detergente; DMO: digestibilidad de la MO; LACT: ácido láctico

En otro trabajo, Pereira- Crespo *et al.* (2016) presentan resultados del seguimiento de la composición, valor nutricional y calidad fermentativa de los ensilados de hierba y maíz en las explotaciones lecheras gallegas durante 13 años (2003 a 2015), con una amplia base de datos de más de 13 mil muestras de ensilado de hierba y más 10 mil muestras de ensilados de maíz procedentes de granjas lecheras recibidas para su análisis en el LIGAL. Para los ensilajes de hierba, los valores medios fueron de 32.9% para MS, 12.7% MS para PB, 57.0% MS para FND y 63.2% para DMO. Los valores de MS, PB y FND son muy parecidos a los valores medios de la muestra de ensilajes de hierba del grupo EH, pero la digestibilidad de los ensilajes de hierba de este grupo, al igual que los de EH-EM y de EM son considerablemente más altos, en el entorno del valor 70-71%

DMO. Para los ensilajes de maíz, los valores medios de las muestras del LIGAL fueron MS 32.2%, PB 8.0% MS, FND 48.4% MS, ALM 28.7% MS y DMO 70.3%, los cuales son comparables con los valores medios de los diferentes grupos en el presente trabajo, si bien el contenido en PB es algo más bajo, lo cual puede estar relacionado con las variedades comerciales de maíz utilizadas. En todo caso, los resultados muestran que los ensilados de hierba, más proteicos y los de maíz, más energéticos, son complementarios en las dietas del ganado vacuno lechero.

4.4.3 Leche de pastoreo en sistemas ecológico y convencional

La leche ecológica, comparada con la producida en las explotaciones que realizan pastoreo en el sistema convencional, mostró un mejor perfil de ácidos grasos, con mayor proporción PUFA, omega-3, CLA, vaccénico y menor ratio entre los ácidos grasos de las series omega-6 a omega-3, coincidiendo con los resultados de distintos trabajos, entre ellos los de Ellis *et al.* (2006) y Prandini *et al.* (2009). La leche de ganaderías ecológicas contenía también más vitaminas A y E, con actividad antioxidante, así como xantofilas y carotenos, coincidiendo con los trabajos de Pentelescu (2009), entre otros. Dado que el grupo de estos compuestos tienen actividad bioactiva con efectos positivos en la salud humana (Pariza, 1999; Elwood, 2009), se concluye que la leche de la muestra de ganaderías ecológicas tiene un perfil más saludable que el presentado por la leche de pastoreo convencional, como evidenciaron otros estudios como los realizados por Bloksma *et al.* (2008) en explotaciones holandesas y O'Donnell *et al.* (2010) quienes analizaron la composición de la leche ecológica y convencional a la venta en lineales de distribución de USA, encontrando estos últimos autores que cuando se consideran los AG bioactivos de la leche, la producida ecológicamente tenía un contenido más elevado en omega-3 (0.82 vs. 0.50% AGt) y en CLA (0.70 vs. 0.57% AGt). En el norte de Inglaterra, Butler *et al.* (2011) comparan también muestras de leche ecológica y convencional tomadas del lineal de la distribución e indican que la primera presentaba, de media, una superior concentración de AG beneficiosos, con valores (en %AGt) de 3.94 vs. 3.18% para PUFA, de 0.74 vs. 0.56% para CLA y de 0.69 vs. 0.44% de ALA.

Los resultados expuestos en la presente tesis coinciden también con los encontrados en estudios colaborativos anteriores realizados por el LIGAL y el CIAM en explotaciones lecheras colaboradoras. Botana *et al.* (2017) compararon la composición de la leche de 5 explotaciones ecológicas con 33 explotaciones convencionales con diferente sistema

de producción, incluyendo el pastoreo y la alimentación con dietas completas a base de ensilajes y proporciones variables de concentrado. Encontraron diferencias significativas en los grupos principales de AG, presentando la leche ecológica, comparada con la convencional, un nivel mayor de AG saturados (69.92 vs. 67.79 % AGt) y de ALA (0.75 vs. 0.51% AGt), una relación $t11/t10$ C18:1 más alta (8.24 vs. 4.33) e inversamente, menores contenidos de monoinsaturados (25.19 vs. 27.46% AGt) y de LA (1.73 vs. 2.2% AGt) y una menor omega 6/omega 3 (2.20 vs. 3.43), corroborando el mejor perfil de AG de la leche ecológica en la misma línea de los encontrado en el presente estudio. El consumo de pastos frescos y de ensilajes de hierba eleva el contenido de la leche en AG de cadena impar y ramificada, como puede verse en el listado de AG individuales presentado en el apartado de resultados de esta tesis, con valores superiores de los AG C14:0*iso*, C15:0*iso*, C15:0*aiiso* y C17:0 en la leche de los grupos de pastoreo ecológico comparado con el de pastoreo convencional y el de este comparado con los de alimentación con ensilajes de maíz. Este grupo de AG son de interés y constituyen un elemento adicional de diferenciación de la leche ecológica, debido a sus efectos beneficiosos sobre la salud humana, toda vez que como indica Bainbridge *et al.* (2016) este grupo de AG son una clase emergente de compuestos bioactivos que ejercen efectos citotóxicos y antitumorales y que se originan en las membranas celulares de las bacterias del rumen, constituyendo por tanto la leche (y la carne) de los rumiantes una fuente única de estos compuestos.

Las diferencias encontradas en la composición de antioxidantes en la leche de sistemas ecológicos vs. convencionales o entre sistemas de pastoreo vs. sistemas de alimentación confinada con forrajes conservados se relacionan, en general, con las diferencias en la ingestión de pastos frescos (Butler *et al.*, 2008), tal y como se observó en nuestro trabajo. Sin embargo en algunos estudios no se encontraron diferencias entre los sistemas orgánico y convencionales, a este respecto, observando una correlación positiva de los contenidos en vitaminas A, α -tocoferol y β -caroteno con la proporción de concentrado en la dieta (Ellis *et al.*, 2007) probablemente debido al suministro de suplementos vitamínicos con el concentrado. En nuestro estudio los concentrados de las explotaciones de los grupos de pastoreo convencional y las basadas en raciones completas estaban suplementados con vitaminas A y E (de 4.7 a 5.4 mg/kg para la vitamina A y de 37 a 65 mg/kg para la vitamina E), pese a lo cual se observaron diferencias en la concentración de α -tocoferol y β -caroteno en todos los momentos de

muestreo a favor del mayor consumo de forraje fresco, comparado con las dietas de ensilaje y entre éstas, a favor del mayor consumo de ensilaje de hierba frente al de maíz.

En otros trabajos se indica que cuando se comparan los resultados de la concentración de α -tocoferol y β -caroteno en la leche de animales estabulados, no se encuentran diferencias entre los sistemas ecológicos y convencionales debido a la carencia de pastos frescos en la dieta de las vacas del sistema ecológico (por ejemplo, Schwendel *et al.*, 2015). En el presente trabajo, el aporte de pastos frescos a la dieta de las vacas en las explotaciones de los grupos de pastoreo es relevante incluso en los períodos de otoño e invierno, sobre todo en las granjas ecológicas, lo que explicaría la superior concentración de antioxidantes en la leche de pastoreo comparada con la de los grupos de alimentación con ensilajes. Por otra parte, se debe tener cuenta que los ensilajes de maíz tienen un inferior contenido en antioxidantes, resaltando Nozière *et al.* (2006) el bajo contenido del maíz en β -caroteno en comparación sobre todo con los pastos frescos, pero también con sus ensilados. En un trabajo realizado en granjas ecológicas danesas donde se midió el contenido en α -tocoferol y β -caroteno de los forrajes, se encontró que las concentraciones en ensilaje de hierba eran de 30 y 21 mg/kg MS y en el de maíz eran de 13 y 8 mg/kg (Mogensen *et al.*, 2012), indicando su bajo contenido en antioxidantes, en comparación con el ensilaje de hierba. La mayor concentración de antioxidantes liposolubles en el grupo de ensilaje de hierba de nuestro estudio, respecto de los grupos de ensilaje de maíz, está de acuerdo con otros trabajos que indican que la hierba ensilada, cuando la calidad de conservación es adecuada, puede retener una alta proporción del α -tocoferol y del β -caroteno presente en el forraje original (Lindmark-Månsson *et al.*, 2003).

Además de la dieta, otros factores pueden influenciar la composición de la leche de vaca, entre ellos la raza y el estado de lactación. Si bien en nuestro estudio el estado de lactación de los rebaños de las explotaciones de los distintos grupos se puede considerar como semejante, dado el sistema de partos a lo largo de todo el año en las explotaciones muestreadas, no se puede descartar un cierto efecto de la raza en la composición de la leche, toda vez que en la explotaciones de pastoreo (sobre todo en las ecológicas) era relevante la frecuencia de otras razas distintas a la frisona. Por ejemplo, Morales *et al.* (2000) observaron que la grasa de la leche de vacas Jersey tenía un contenido significativamente más bajo en CLA comparado con las vacas Holstein. Por otra parte, el trabajo de Nantapo *et al.* (2014) comparando el perfil de ácidos grasos de la leche de

vacas Frisonas, Jersey y sus cruces en distintos estados de lactación indican que leche de vacas frisonas es más alta en ácidos grasos poliinsaturados y en lactación temprana la grasa de la leche tiene un superior contenido en ácidos grasos saturados pero también más alto en CLA y ácido alfa-linolénico.

4.4.4. Leche producida en sistemas de pastoreo vs. sistemas de raciones completas con ensilajes

La diferente proporción de pastos frescos y ensilados en la dieta de las vacas de leche es, en opinión de diversos autores, la causa principal de la variación de la composición de la leche de las vacas en primavera e invierno. Han sido reportadas variaciones de hasta un factor de 4 en el contenido en CLA total entre vacas en pastoreo y estabuladas en Suecia y por un factor de 3 entre las mismas tipologías de manejo en Holanda (Elsgerma, 2015). En otro trabajo, Schroeder *et al.* (2004) revisaron siete estudios que comparaban la variación de la concentración de ALA en la leche de vacas alimentadas en pastoreo con la de vacas que consumían raciones completas, reportando un incremento medio del 130%, con una considerable variación de la respuesta entre experimentos, que oscilaba entre el 15 y el 369%, indicando que las diferencias en la disponibilidad de pasto, el tiempo de pastoreo, el genotipo de la hierba, su estado fenológico y el nivel de fertilización nitrogenada pueden explicar estas grandes variaciones.

En el análisis de los resultados obtenidos por los distintos sistemas de alimentación debe ser considerado que si bien los sistemas de pastoreo, con bajo consumo de concentrados, aumentan la proporción de AG beneficiosos y mejoran la composición de la leche, la producción por vaca normalmente se reduce por la limitación de la ingesta de energía, en comparación con los sistemas más intensivos (Dewhurst *et al.*, 2006). En estas condiciones, el menor rendimiento se acompaña por un descenso en la concentración de proteína en la leche, a veces por un incremento de la grasa (Slots *et al.* 2009) y habitualmente por un aumento de la concentración de los AG de cadena larga de la serie omega-3 (Kalač y Samková, 2010).

En un trabajo realizado en el CIAM basado en 158 observaciones procedentes de leche de tanque de explotaciones gallegas con distinto sistema de alimentación, visitadas en el año 2012, Resch *et al.* (2015) analizan la relación entre la composición de la dieta y la calidad de la leche. Las muestras se agruparon en tres tipos de dietas, las primeras basadas en pastoreo (con el 45.7 % de hierba en la MS de la ración, como media) y dos

tipos basados en raciones completas, donde el forraje predominante era el ensilaje de hierba o los ensilajes de hierba y de maíz (medias de 50.5% y de 21.9 y 33.7% de la MS, respectivamente). La proporción del concentrado era, para los tres grupos, el 22.1%, el 27.5% y el 39.6% de la MS total, respectivamente. Los resultados obtenidos en cuanto al perfil de AG de las muestras de leche coinciden, en líneas generales, con los del presente trabajo, en el sentido de que la composición más favorable de la leche, desde el punto de vista de la presencia de AG bioactivos con efectos favorables en la salud humana fue para la leche de pastoreo, seguida de la de los sistemas que alimentaban al ganado estabulado con raciones completas basadas en ensilaje de hierba y en ensilajes de hierba y maíz, por este orden. Se observó una correlación positiva de la proporción de pastos frescos y, en menor medida, de ensilaje de hierba con la concentración de omega-3 y CLAc9t11 y negativa con el ratio omega-6/omega-3, con valores medios para las muestras de pastoreo, de ensilaje de hierba y de ensilajes de hierba y de maíz de 0.88, 0.79 y 0.61% AGt para omega-3, de 0.87, 0.68 y 0.55% AGt para CLAc9t11 y de 3.3, 3.4 y 5.0 para el ratio omega6/omega3, respectivamente.

En un trabajo posterior, Flores *et al.* (2016) confirman estos resultados al analizar los valores del perfil de AG y de antioxidantes en 178 muestras de leche de tanque de explotaciones lecheras gallegas muestreadas en el año 2014. Al igual que se hizo en el presente trabajo, fueron agrupadas en cuatro tipos: el primero de pastoreo y los tres restantes basados en mezclas donde el forraje principal era el ensilaje de hierba y/o de maíz. La proporción de los forrajes predominantes de la ración en los cuatro tipos de dietas (en % de la MS consumida diariamente) eran, respectivamente, para el primer grupo la hierba fresca (48.1%), para el segundo el ensilaje de hierba (40.0%), para el tercero los ensilajes de hierba y de maíz (28.4 y 31.8%) y para el cuarto el ensilaje de maíz (47.8%). La proporción de concentrados y el porcentaje de almidón fueron, respectivamente, 22.7 y 7.3%, de 35.0 y 14.4%, de 36.8 y 25.0% y de 38.4 y 25.3% de la MS total. Se observó una tendencia positiva de los contenidos en TVA, CLAc9t11, omega-3 y del ratio t11/t10 C18:1 con el incremento de hierba (fresca o ensilada) en la ración e inversamente, una tendencia negativa de dichos contenidos con el incremento de almidón en la dieta. Para las muestras de leche de pastoreo y de los tres grupos de ensilajes (de hierba, de hierba y maíz y de maíz) los valores obtenidos fueron de 1.63, 1.38, 0.89 y 0.66% AGt para TVA, de 0.89, 0.80, 0.56 y 0.47 para CLAc9t11, de 0.63, 0.52, 0.32 y 0.27 para ALA, mientras el ratio t11/t10 C18:1 fue de 6.4, 4.4, 3.0 y 1.4 y

el de omega-6/omega-3 de 2.6, 3.5, 4.3 y 4.3, lo cual coincide plenamente con los resultados obtenidos en el presente trabajo.

Utilizando la misma base de muestras producida en el referido estudio de Flores *et al.* (2017), un nuevo trabajo colaborativo realizado entre el CIAM y el LIGAL permitió obtener por vez primera información acerca de la composición de vitaminas A, E y carotenoides de muestras de leche de tanque de explotaciones gallegas, agrupadas según el sistema de alimentación de las vacas. De forma coincidente con los resultados obtenidos en el presente trabajo, Botana *et al.* (2018a) indican la existencia de una tendencia a aumentar los contenidos de α -tocoferol, luteína y carotenos con el incremento de la hierba fresca o del ensilaje de hierba en la dieta y subrayan la significativa mayor concentración de estos componentes en la leche de pastoreo, comparada con la de dietas completas basadas en ensilajes de hierba y la de éstas, a su vez, comparada con las de dietas completas basadas en ensilajes de hierba y maíz y en ensilajes de maíz. Para estos cuatro grupos, respectivamente, los valores medios (en $\mu\text{g/L}$ de leche) de la concentración de antioxidantes liposolubles fue de 1104, 846, 752 y 661 $\mu\text{g/L}$ para α -tocoferol, de 12.7, 8.2, 7.9 y 5.9 $\mu\text{g/L}$ para luteína y de 103, 82, 62 y 51 para all-*trans*- β -caroteno.

Otro autores, como por ejemplo Agabriel *et al.* (2007) estudiando la variabilidad de la composición en vitaminas y carotenoides de la leche de tanque de explotaciones francesas con distintos sistemas de alimentación observaron que la variabilidad observada para los contenidos de β -caroteno, luteína y vitamina E (α -tocoferol) estaban relacionadas con la proporción de hierba pastada o de ensilaje de hierba presentes en la dieta de las vacas, con coeficientes de correlación (r) de +0.66, +0.69 y +0.51, respectivamente, mientras el contenido de vitamina A no guardaba ninguna relación con la composición de la dieta, confirmando los resultados obtenidos en los trabajos realizados en el entorno CIAM-LIGAL.

Slots *et al.* (2009), estudiaron la composición de la leche de tanque de explotaciones convencional-intensivo y ecológicas de Dinamarca, y las compararon con sistemas de “todo pasto” en producción convencional. La composición de las raciones (en % MS total) para los sistemas convencional-intensivo, ecológico y “todo pasto” eran: 16%, 4% y 94% de pastos frescos, 33%, 18% y 0% de ensilaje de hierba, 10%, 32% y 0% de ensilaje de maíz y 31%, 38% y 6% de concentrados, respectivamente, siendo el resto forrajes secos y otros ensilajes. La leche de las explotaciones ecológicas tenía una

proporción del 0.92% y del 3.6% AGt de ALA y de PUFA, ambas claramente más altas que las de las convencional-intensivas, al igual que la concentración de α -tocoferol (1800 $\mu\text{g/L}$ de leche). En cambio la leche de las explotaciones convencional-intensivas, con mayor porcentaje de almidón en la dieta y menos pastos frescos y ensilados, mostraba niveles más elevados de LA y MUFA (1.97 y 27.5% AGt, respectivamente) y un alto ratio entre omega-6/omega-3 (4.7). La leche del sistema convencional de “todo pasto” tenía valores más elevados de CLAc9t11, de TVA y de MUFA (1.75, 3.7 y 30.0 %AGt) así como de α -tocoferol (32.0 $\mu\text{g/g}$ de grasa) y de β -caroteno (9.3 $\mu\text{g/g}$ de grasa), aproximándose la relación omega-6/omega-3 a la unidad. Los resultados de este trabajo muestran que, cuando la proporción de pasto en la dieta es muy alta, el perfil de la leche de las vacas en pastoreo convencional tiene una concentración superior de compuestos bioactivos comparada con la de sistemas ecológicos con niveles moderados o bajos de pastos frescos. Los autores concluyen que, a pesar de la menor producción de leche en el sistema convencional de “todo pasto” (17.9 kg/vaca y día) comparada con la del sistema ecológico (24.6 kg/vaca y día) y convencional-intensivo (29.3 kg/vaca y día) se recomendaría el primer sistema para producir una leche con alto contenido en compuestos bioactivos, especulando acerca de la posibilidad de que el alto contenido en antioxidantes de la leche de “todo pasto” pudiese conferir una adecuada estabilidad oxidativa a la leche a pesar del alto contenido en AG poliinsaturados.

En nuestro trabajo, la proporción de pastos frescos tanto en los grupos PE como PC es más alta que la del grupo ecológico del trabajo danés y, si sumamos la contribución de la hierba fresca y al ensilada, se alcanzan valores del 84% para PE, del 65.7% para PC y del 49.4% para EH. Los valores observados en las explotaciones ecológicas gallegas para ALA, CLAc9t11 y TVA son más altos que las explotaciones ecológicas danesas de la muestra y muy próximos a los del sistema de “todo pasto” siendo también muy próximos los de α -tocoferol y algo inferiores los de β -caroteno (29.7 y 6.4 $\mu\text{g/g}$ de grasa, en nuestro trabajo). También los valores de las explotaciones de pastoreo gallegas muestran valores de AG bioactivos, del ratio omega-6/omega-3 y de antioxidantes comparables o superiores a los de las explotaciones ecológicas e intermedios con la muestra de explotaciones de “todo pasto” de la muestra danesa. Por tanto, es también probable que la concentración de antioxidantes fuese suficiente para mantener una adecuada estabilidad oxidativa de la leche de pastoreo de las

explotaciones gallegas, incluso con los niveles más altos de PUFA, aspecto que debería ser comprobado en futuros trabajos.

Los resultados anteriores confirman, por tanto, que la mejora del perfil de AG y de antioxidantes liposolubles de la leche según el sistema de alimentación se conduce, en las explotaciones lecheras gallegas, de la siguiente manera: pastoreo ecológico > pastoreo convencional > mezclas completas con ensilaje de hierba > mezclas completas con ensilajes de hierba y de maíz > mezclas completas con ensilajes de maíz. Estos resultados son comparables, en líneas generales con la bibliografía revisada, lo cual avala la consistencia de nuestro trabajo.

4.4.5. Transferencia de alfa-linolénico de la dieta a la leche en explotaciones de pastoreo ecológico y convencional

De los resultados expuestos se deduce que existe una evidencia contundente acerca de que la concentración de principios bioactivos en la leche de las vacas de las explotaciones ecológicas es superior a la de las explotaciones de pastoreo convencional, sin que ni la proporción de pastos frescos en la dieta, ni los análisis de composición nutricional puedan explicar la mejor calidad de la leche. Tampoco la mayor presencia de razas diferentes a la frisona en las explotaciones ecológicas explicarían este hecho, dado que como indican entre otros Kelsey *et al.* (2003), Auld *et al.* (2004) y Samková *et al.* (2012), a igualdad de condiciones de dieta y ambiente, la leche de las razas más productoras como Holstein presentan mayores contenidos de linoleico, alfa-linolénico y de CLA que otras razas de menor producción, como Jersey y Pardo Alpina, por ejemplo, que tienden a presentar proporciones más elevadas de palmítico.

A fin de explorar si en las condiciones de las explotaciones ecológicas, comparadas con las convencionales existía una transferencia más eficiente de compuestos bioactivos de la dieta a la leche, se tomó como referencia el ácido alfa-linolénico, del cual existía información acerca de su concentración en la dieta y en la leche. Como se indica en la Tabla 4.24, los contenidos medios de ALA en el pasto fresco y los ensilajes de hierba de las explotaciones de pastoreo ecológico fueron de 7.3 y 2.0 g/kg MS y de 7.7 y 3.2 g/kg MS en las de pastoreo convencional. En ambos grupos la concentración de ALA fue de 0.3 g/kg MS en el ensilaje de maíz y de 1.1 g/kg MS en el concentrado, considerándose una concentración para el heno del 50% del valor de ALA en el ensilaje de hierba.

Tabla 4.24.- Proporción de ingredientes en la dieta y concentración de ALA

	Ingredientes de la dieta				Concentrados
	Hierba fresca	Ensilaje de hierba	Ensilaje de maíz	Forrajes secos	
Pastoreo ecológico					
Composición dieta (%MS)	46.0	28.1	2.3	9	14.6
ALA g/kg MS	7.3	2.0	0.3	1.0	1.1
Pastoreo convencional					
Composición dieta (%MS)	42.6	23.1	6.3	9.4	18.5
ALA g/kg MS	7.7	3.2	0.3	1.6	1.1

MS: materia seca; ALA: ácido alfa-linolénico

En la Tabla 4.25 se muestran los resultados de los cálculos efectuados para estimar la ingestión de ALA, su excreción en la leche y su tasa de recuperación aparente en las explotaciones de pastoreo ecológico y convencional. Como puede verse, las vacas en pastoreo ecológico ingieren, de media, un 9% menos de ALA que las de pastoreo convencional, pero el output en la leche de este AG es un 15% superior, con un balance global de recuperación aparente de ALA en la leche del 8.3% para el pastoreo ecológico y un 6.6% para el pastoreo convencional.

Tabla 4.25.- Recuperación aparente de ALA en las explotaciones de pastoreo ecológico y convencional

	Grupo de explotaciones	
	Pastoreo ecológico	Pastoreo convencional
Input		
ALA g/kg MS	4.17	4.39
IMS, kg MS/vaca	18.2	19.0
Total ALA input, g/vaca e día	75.9	83.4
Output		
Producción leche (4%MG), kg/vaca y día	17.6	20.4
Proporción de ALA en la leche (%AGt)	0.96	0.72
Total ALA output (g/vaca y día)	6.3	5.5
Balance		
Recuperación aparente de ALA (%)	8.3%	6.6%

ALA: ácido alfa-linolénico; MS: materia seca; IMS: ingestión de MS; MG: materia grasa; AGt: ácidos grasos totales

Es conocido que dietas con valores elevados de alfa-linolénico producen leche con un mayor contenido en este AG (Dewhurst *et al.*, 2006), como se observó en el presente trabajo comparando las dietas completas a base de ensilajes, sobre todo en el caso de las de maíz, con las de pastoreo. Sin embargo, esta relación está sujeta a la acción de diferentes factores entre los que destaca la modificación de los pasos de la biohidrogenación ruminal (Chilliard *et al.*, 2007), la movilización de la grasa corporal (Khiaosa-ard *et al.*, 2015) y la existencia de algún tipo de regulación homeostática que

favorece una recuperación más eficiente de alfa-linolénico cuando su concentración en la dieta es baja (Leiber *et al.*, 2004). En el presente trabajo, la concentración media de ALA en la dieta es muy semejante para las explotaciones de pastoreo ecológico y convencional, por lo que el hecho de que la tasa de recuperación sea, globalmente, un 26% más elevada para las primeras podría sugerir la existencia de determinados compuestos bioactivos ligados a la mayor diversidad botánica de los pastos en las explotaciones ecológicas que pudieran modificar las rutas de biohidrogenación del ALA y LA en el rumen, favoreciendo una mayor tasa de transferencia de ALA a la leche y una mayor producción de TVA y por tanto de CLA en la glándula mamaria, aspectos que deberían ser estudiados con más detalle en futuros proyectos.

4.4.6. Marcadores de la procedencia alimentaria de la leche

Los resultados obtenidos en el presente trabajo respecto de la utilidad del perfil de AG y de antioxidantes de la leche como trazadores de la procedencia alimentaria de las muestras de leche vienen a corroborar los prometedores resultados encontrados por otros autores sobre este tema. En un estudio realizado sobre un total de 204 granjas de Francia en las cuales se tomaron muestras de leche de tanque Engel *et al.* (2007) compararon el potencial de distintos biomarcadores y concluyeron que los ácidos grasos son los compuestos que presentan un mayor potencial para discriminar la zona de producción (zonas bajas vs. zonas de montaña) y la alimentación de las vacas (relativa a la proporción de ensilados de maíz y de hierba en la dieta). Por otra parte, Agabriel *et al.* (2007), en un estudio realizado con leche de tanque de aproximadamente 200 granjas que seguían diferentes sistemas de alimentación observaron que la presencia de carotenos y tocoferoles en la leche, pero no la de vitamina A, estaba relacionada con la proporción de pasto en la dieta. Dado que la concentración de ácidos grasos de tipo poliinsaturados, de cadena impar y de cadenas ramificadas se incrementa con el consumo de pastos frescos, Ferlay *et al.* (2008) propuso utilizar estos predictores para estimar la proporción de forrajes frescos en la dieta. Aunque la concentración de los citados ácidos grasos poliinsaturados, de cadena impar y ramificados en la leche puede ser alterada por la adición de aceites vegetales ricos en ácidos grasos poliinsaturados, aquellos pueden todavía ser considerados como buenos marcadores de una dieta basada en el pasto según concluyen Engel *et al.* (2007). La concentración de determinados AG en la leche se usa para detectar presuntas anomalías en la alimentación de las vacas de leche en granjas ecológicas, como es el caso de los EEUU donde se utilizan los

contenidos en ALA, CLA y LA (alto en los dos primeros, más bajo en el segundo) para controlar que la producción ecológica, en particular determinadas mega-granjas, mantiene los estándares de consumo de pastos requeridos por la norma ecológica (Whoriskey, 2017).

En un trabajo realizado sobre una base de datos procedente del muestreo de 45 granjas lecheras gallegas con distintos sistemas de alimentación, de las cuales se conocía la composición de la dieta y el perfil de AG de la leche, Botana *et al.* (2018b) indican que las ecuaciones discriminantes obtenidas para la asignación de la pertenencia de las muestras de leche a los grupos de dietas con/sin pastos frescos a partir de su composición en AG, permitía clasificar correctamente al 89.5% de las muestras de pastoreo y al 84.7% las de no pastoreo, con resultados muy parecidos, aunque algo menos precisos, que los obtenidos en el presente trabajo. Los autores recuerdan, sin embargo, que los resultados deben ser mejorados ampliando las colecciones de calibración e incluyendo nuevos predictores.

Como se ha visto, la inclusión de los compuestos antioxidantes permitieron mejorar las frecuencias de asignación correcta de las muestras problema pero de acuerdo a lo indicado anteriormente y sin descartar la posibilidad de mejora de los sistemas de predicción del origen alimentario de las muestras de leche en base a los perfiles de AG y antioxidantes determinados por métodos cromatográficos, los trabajos futuros para trazar el origen alimentario de las muestras de leche deben ser orientados al desarrollo de métodos de estimación más rápidos, menos costosos y más adaptables a las rutinas de los laboratorios de servicio como la tecnología de espectroscopía de infrarrojo como indican los trabajos, entre otros de Coppa *et al.* (2012), Valenti *et al.* (2013) y Pereira-Crespo *et al.* (2018).

4.5. CONCLUSIONES

El estudio permitió caracterizar la composición de la leche de tanque producida con sistemas de alimentación representativos de los diversos modelos seguidos en las explotaciones gallegas de vacuno, incluyendo el pastoreo en granjas ecológicas y convencionales y la alimentación con dietas completas mezcladas a base de ensilajes de hierba, de hierba y de maíz y de maíz, con vacas estabuladas permanentemente.

Existe un gradiente de intensificación productiva desde los grupos de pastoreo hasta el de alimentación con raciones completas basado en ensilaje de maíz, con valores crecientes de carga ganadera, producción de leche por ha de SAU y nivel de almidón en la MS de la dieta.

La composición de la leche se ve modificada por el sistema de alimentación y en menor medida por el momento de muestreo, con un comportamiento semejante entre sistemas de alimentación en las diversas estaciones del año.

El contenido en proteína, lactosa y extracto seco de la leche se incrementan con el nivel de almidón de la dieta, con los valores más bajos para la leche de pastoreo ecológico. El punto crioscópico de la leche es más elevado en las explotaciones de pastoreo, principalmente en las ecológicas.

La calidad de la grasa de la leche, desde el punto de vista de la concentración de ácidos grasos y antioxidantes liposolubles con carácter bioactivo saludable, se ve mejorada en el sistema de pastoreo ecológico sobre el pastoreo convencional, por el pastoreo convencional sobre la alimentación con dietas completas a base de ensilajes y por el uso en dietas completas de ensilaje de hierba frente al ensilaje de maíz.

Las diferencias relativas entre sistema en cuanto al perfil de ácidos grasos y antioxidantes de la leche se mantienen, de forma consistente, a lo largo de las diferentes estaciones del año.

Esta mejora se concreta, para el perfil de ácidos grasos, en una mayor concentración de transvaccénico, linoleico conjugado (isómeros *c9t11* y CLA total), alfa-linolénico y omega-3 total y un menor ratio omega-6/omega-3 en la leche de las explotaciones de pastoreo, sobre todo en las ecológicas, frente a las que alimentan con dietas completas, en particular en las que predomina el ensilaje de maíz.

La misma tendencia se observa para el contenido en antioxidantes liposolubles, mostrando la leche de las explotaciones que pastorean, sobre todo las de producción ecológica, las concentraciones más elevadas de α -tocoferol, β -caroteno y luteína de todos los grupos de la muestra.

Se verificó la utilidad de la composición de ácidos grasos y antioxidantes de la leche para discriminar la presencia o no de pasto en la dieta de las vacas, con una alta probabilidad. Su utilidad práctica para adaptarse a las rutinas de servicio es, sin embargo, dudosa, debido al coste y a la laboriosidad de las determinaciones, por lo que se indica la necesidad de evaluar otros métodos más rápidos y menos costosos, como los basados en la espectroscopía de infrarrojo, que ofrecen prometedores resultados y están siendo objeto de estudio actualmente en el entorno LIGAL-CIAM.



5. CAPÍTULO III

EFFECTO DEL PASTOREO Y DEL CONSUMO DE DIETAS COMPLETAS CON NIVELES VARIABLES DE CONCENTRADO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE LECHE Y SU PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS Y DE ANTIOXIDANTES LIPOSOLUBLES

5.1. INTRODUCCIÓN

Desde el punto de vista del consumidor, la calidad no sólo se mide por el cumplimiento estricto de las normas que garantizan la seguridad alimentaria y las propiedades nutricionales de la leche y los productos lácteos, sino que se amplía cada día más a campos relativos a la salud, la conservación del medio ambiente, el bienestar animal y la reducción del impacto climático de la agricultura, entre otros. El cumplimiento de estas necesidades requiere de sistemas productivos que proporcionen los alimentos deseados a través de modelos de producción sostenibles, que generen valor añadido al producto en el mercado. Entre la abundante bibliografía coincidente sobre este tema, Elgersma *et al.* (2006), opinan que la alimentación de las vacas de leche con forrajes representa la forma más natural, sostenible y económica de conseguir mejorar la calidad de la leche desde el punto de vista nutricional. Sumado a lo anterior, por ejemplo, Chilliard *et al.* (2001) afirman que la leche contiene más vitaminas A y E, carotenoides y ácidos grasos poliinsaturados, junto con menos ácidos grasos saturados en el período de primavera-verano, cuando los animales tienen acceso al pasto fresco, comparado con las dietas invernales, cuando los animales consumen raciones de ensilados con un mayor nivel de concentrado. Por estas razones, entre otras de índole económica, medioambiental y de imagen de producto, existe un interés creciente en explorar en qué medida el consumo de pastos permitiría producir leche rica en los citados compuestos funcionales. Sin embargo, la información a nivel local es escasa y llega a ser prácticamente inexistente en lo que se refiere al efecto de la alimentación con forrajes frescos y conservados sobre la composición de la leche. Para complementar la información obtenida en el estudio realizado en la muestra de explotaciones lecheras con distinto sistema de alimentación, cuyos resultados se expusieron en el capítulo anterior, se planteó un estudio en el CIAM en condiciones de alimentación controladas, donde se evaluó el efecto de cuatro tipos de dietas con una

composición variable de pastos frescos, ensilajes de hierba y de maíz y distintos niveles de almidón, sobre la producción de leche y su composición fisicoquímica, perfil de ácidos grasos, vitaminas A y E y carotenoides.

5.2. MATERIAL Y MÉTODOS

5.2.1. Diseño experimental

Durante la primavera del año 2017 se realizó un ensayo de alimentación con vacas de leche donde se evaluaron cuatro dietas que pretendían representar los diferentes niveles de intensificación productiva que se pueden encontrar en las explotaciones lecheras de Galicia, integrando el pastoreo y el uso de raciones completas (TMR) con diferentes niveles de concentrado. Dos de ellas estaban basadas en el pastoreo (T1: pastoreo día y noche y T2: pastoreo diurno, suplementado por la noche en el establo con TMR) y dos con animales estabulados permanentemente y alimentados con una TMR basada en ensilajes de hierba y de maíz (T3) o en ensilaje de maíz (T4), con niveles de concentrado crecientes desde T1 (muy bajo) hasta T4 (alto).

Para el diseño estadístico se siguió un diseño en bloques completamente aleatorizados, analizado según un modelo de medidas repetidas en el tiempo, con 4 tratamientos (dietas), y 6 repeticiones (vacas) por tratamiento. La duración total de los ensayos fue desde el 20 de marzo al 2 de julio de 2017, con un período experimental de doce semanas, precedido por un período preexperimental de tres semanas, en el cual los animales se adaptaron al tipo de alimentación y al sistema de control de alimentación.

5.2.2. Localización, siembra y fertilización de las praderas dedicadas a pastoreo

Los ensayos se desarrollaron en la finca experimental del Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo sita en Abegondo (A Coruña, 43° 15' N, 8° 18' W), representativa de la zona costera atlántica del norte de Galicia, con suelos de tipo cambisol húmico, franco-limosos de profundidad media, moderadamente ácidos ($\text{pH } 5.70 \pm 0.03$, porcentaje de saturación de aluminio 19.6 ± 5.7) y de riqueza media en fósforo y potasio ($\text{P: } 24.8 \pm 6.7$ ppm y $\text{K: } 246 \pm 57.5$ ppm).

Para llevar a cabo el pastoreo en los tratamientos T1 y T2 se escogieron dos parcelas de una superficie de 3.0 ha cada una, dentro de la superficie utilizada habitualmente para el

pastoreo del rebaño lechero del CIAM. Las parcelas escogidas eran praderas que necesitaban ser renovadas, por lo que, siguiendo las prácticas agronómicas habituales del CIAM, se sembraron a comienzos de septiembre de 2016. Antes de un volteo del terreno con un arado de vertedera (Överum Bruk, Överum, Suecia), las parcelas se encalaron con calizas molidas, con una dosis equivalente a 1.5 t/ha de óxido de calcio. La fertilización se realizó según las recomendaciones descritas por Piñeiro *et al.* (2009) para cultivos forrajeros en suelos de moderada acidez y contenido medio en fósforo y potasa, aplicando por hectárea 100 kg de N, 60 kg de P_2O_5 y 150 kg de K_2O con una abonadora centrífuga (Bogballe, Uldum, Dinamarca). En cobertera, tras cada pastoreo, se aplicaron 50 kg/ha de N. A continuación, tras las labores de fertilización de fondo, se sembraron 35 kg/ha de raigrás inglés (*Lolium perenne* L.) cv. Barsintra, con una sembradora neumática combinada con grada rotativa vertical, tabla alisadora y sembradora (Alpego, Lonigo, Italia), pasando inmediatamente un rulo de fundición Vomer (León, España). No fue necesaria la aplicación de ningún herbicida para el control de malas hierbas.

5.2.3. Localización, siembra y cosecha del ensilaje de hierba

Los cultivos para producir los forrajes conservados que se utilizaron en los ensayos descritos en este trabajo, se sembraron en una superficie de 4.0 ha de la finca experimental del CIAM, siguiendo una rotación de dos cultivos por año. El tipo de suelo y su nivel de fertilidad era semejante al descrito para las praderas de pastoreo. A finales de septiembre del año 2015 preparó el terreno para la siembra de una mezcla de raigrás híbrido (*Lolium hybridum* H.), cv. Barsilo (10 kg/ha) y cuatro especies de tréboles anuales: t. alejandrino (*Trifolium alexandrinum* L.), cv. Tigris (5 kg/ha); t. encarnado (*Trifolium incarnatum* L.), cv. Sant Antonio (5 kg/ha); t. migueliano (*Trifolium michelianum* S.), cv. Bolta (3 kg/ha) y t. persa (*Trifolium resupinatum* L., ssp. *resupinatum*), cv. Kyambro (3 kg/ha). Las labores se realizaron siguiendo las prácticas agronómicas habituales en el CIAM, con el mismo tipo de maquinaria descrito para la implantación de la superficie de pastoreo. El encalado se realizó con calizas molidas en dosis equivalente a 1 t/ha de óxido de calcio, previo a la fertilización. Esta se ajustó a 60 kg de P_2O_5 y 200 kg de K_2O por hectárea, no recibiendo el terreno ningún tipo de fertilización nitrogenada. Tras la siembra, el cultivo sufrió la competencia de especies adventicias de hoja ancha, aplicándose para su control en toda la superficie el herbicida Basagran (materia activa Bentazona 48%) a dosis de 1.5 L/ha con una cuba de tratamientos fitosanitarios Hardi (Lleida, España).

El aprovechamiento del cultivo se realizó en un solo corte en la primera mitad del mes de mayo del 2016, con unas condiciones climáticas óptimas, tiempo soleado y sin lluvia. La hierba se cortó utilizando una segadora rotativa con acondicionador de dientes (John Deere 730 JD Ibérica, Madrid, España), trabajando con los deflectores abiertos para extender lo máximo posible el forraje sobre el terreno. Antes de la recolección, solamente se realizó una operación de hilerado, con un hilerador Kuhn (Saverne, Francia), previa a la recolección, evitando una posible separación de las hojas de las leguminosas en volteos intermedios, lo que dificultaría su recolección e implicaría una disminución de la calidad nutricional del ensilado. La hierba se dejó presecar durante 24 horas, tratando de conseguir un forraje con un contenido en materia seca (MS) próximo al 30-35%. El forraje presecado se recolectó con una rotoempacadora-picadora con cámara variable de pacas cilíndricas (Vicon Opticut RV-1601, Kverneland Group, Klepp Stasjon, Noruega). Acto seguido, con una envolvedora Morra Macchine Agricole s.n.c. (Cherasco CN, Italia), se revistieron las pacas con cinco capas de plástico extensible para asegurar su estanqueidad frente al aire. Debido a las buenas condiciones climáticas existentes durante el tiempo de secado en el campo, no fue necesario utilizar ningún aditivo en el ensilado. Completada la recolección, las pacas se trasladaron y almacenaron en las instalaciones disponibles en el CIAM para tal efecto, hasta su posterior empleo en el ensayo de alimentación de primavera del año 2017.

5.2.4. Localización, siembra y cosecha del ensilaje de maíz

El maíz forrajero (*Zea mays* L.) se cultivó, mediante las prácticas agronómicas habituales del CIAM, en la superficie empleada para la obtención del ensilado de hierba. En la segunda mitad de mayo de 2016, inmediatamente tras la recolección del cultivo de invierno, se realizó una labor de alzado con arado de vertedera y a continuación, se aplicó la fertilización de fondo con una abonadora centrífuga, añadiendo al mismo tiempo el tratamiento insecticida. La fertilización aplicada fue de 800 kg/ha del complejo 15-15-15 y 225 kg/ha de ClK (60% de K₂O), con un aporte total por hectárea de 120 kg de N, 120 kg de P₂O₅ y 255 kg de K₂O. El insecticida aplicado fue el Clorpirifos 48%, a una dosis de 1.5 L/ha. Posteriormente, se sembró el maíz forrajero cv. Rulexx, a una dosis de siembra de 100.000 plantas por hectárea, con una sembradora combinada, que contaba con una grada rotativa de eje vertical, una tabla alisadora, una sembradora neumática y un rulo packer (rulo acanalado) trasero para compactar la semilla. Excepto la sembradora, de la marca Kuhn (Saverne, Francia), los demás componentes eran Alpego (Lonigo, Italia). Como

último trabajo en la siembra se realizó el tratamiento herbicida en preemergencia, con una dosis de aplicación de 3.5 L/ha de Harness GTZ, aplicado con una cuba de fitosanitarios.

El maíz sembrado tenía un ciclo de cultivo medio, con un período siembra-cosecha de 137 días. La cosecha se realizó a finales de septiembre, cuando la línea de leche del grano se situó entre 1/3 y 3/4 de su recorrido, utilizando una cosechadora picadora autopropulsada John Deere (Illinois, Estados Unidos), sin aplicación de aditivos. El forraje se transportó en remolques hasta la zona de silos del CIAM, donde se almacenó en un silo tipo bunker con paredes y solera de hormigón, cubierto por 2 capas de plástico para evitar la entrada de agua y aire hasta su posterior utilización en el ensayo de alimentación.

5.2.5. Selección y manejo de las vacas

Los ensayos de experimentación animal se desarrollaron en las naves ganaderas del CIAM. Se utilizaron 24 vacas de raza Holstein del rebaño experimental del CIAM, con un potencial lechero moderado (8.000-9.000 kg/lactación), de las cuales 4 eran primíparas, que habían parido entre los meses de enero y febrero de 2017. Los animales se distribuyeron aleatoriamente en cuatro grupos homogéneos en cuanto a producción de leche, días en leche, número de partos y peso vivo de cada animal. Cada grupo fue aleatoriamente asignado a uno de los cuatro tratamientos, en el que permanecieron durante todo el ensayo. Al inicio del período experimental, de media, las vacas se encontraban en el día 81.2 ± 17.3 tras el parto, tenían una producción media diaria de 40.1 ± 6.8 kg de leche, un peso vivo de 602.6 ± 71.6 kg y una condición corporal de 2.67 ± 0.51 .

El ordeño se realizó dos veces al día, a las 8:00 h y a las 19:00 h, en una sala de ordeño que contaba con el sistema de control de la producción Delaval AIPro System (Agrolaval S.L, Gijón, Asturias). Las vacas del tratamiento T1 únicamente entraban en las instalaciones ganaderas después del ordeño de la mañana, para comer el concentrado que le correspondía diariamente, estando el resto de las horas en la pradera. Los animales del tratamiento T2 salieron a pastorear entre los ordeños de la mañana y de la tarde, quedando estabuladas por la noche, mientras que las vacas de los grupos T3 y T4 permanecieron estabuladas todo el ensayo. Los animales estabulados se encontraban alojados en una nave dotada con un sistema de comederos con control monitorizado sobre la alimentación individual de cada vaca (Agrolaval S.L., Gijón, España).

5.2.6. Alimentación de las vacas

La composición de las raciones de los diferentes tratamientos (en kg de MS/vaca y día) fue como sigue:

T1.- Pasto día y noche con una suplementación de 2 kg de concentrado comercial.

T2.- Pasto durante el día. Durante la noche una ración TMR con ensilado de maíz (5 kg), heno de pradera estándar (0.5 kg) y concentrado (4 kg).

T3.- TMR compuesta de ensilado de hierba (6 kg), ensilado de maíz (6 kg), heno de pradera estándar (1.5 kg) y concentrado (8 kg).

T4.- TMR compuesta de ensilado de maíz (9 kg), heno de pradera estándar (2 kg) y concentrado (12 kg).

El concentrado comercial, del 24% PB, fue el mismo para todos los tratamientos. Su composición era (en kg/1000 kg de MS) de 23.5 kg de harina de maíz, 22.3 kg de harina de cebada, 32.5 kg de torta de soja-44, 15.0 kg de torta de colza y 3.7 kg de un núcleo mineral y un corrector vitamínico. Como se puede ver en la Tabla 5.1., donde se indica la estimación de la composición porcentual de cada alimento en los distintos tratamientos, la relación de forraje/concentrado fue 90/10 (T1), 80/20 (T2), 63/37 (T3) y 48/52 (T4).

Tabla 5.1.- Composición estimada de la dieta en los diferentes tratamientos (% MS total)

Tratamiento	Pasto	Ensilaje hierba	Ensilaje maíz	Heno	Concentrado 24% PB
T1	90	0	0	0	10
T2	53	0	25	3	20
T3	0	28	28	7	37
T4	0	0	39	9	52

PB: Proteína bruta

El manejo del pasto ofertado a las vacas de los tratamientos T1 y T2 se realizó siguiendo un sistema de pastoreo rotacional, tratando de tener una cantidad de pasto en oferta que excediese el consumo potencial de los animales. Las vacas de los 2 tratamientos pastorearon juntas por el día, mientras que, durante la noche, solo el grupo T1 volvía al pasto. Dentro de cada parcela de 3.0 ha (100 x 300 m) se delimitaron 6 subparcelas con una superficie aproximada de 0.5 ha (100 x 50 m), delimitándose el área de pasto ofrecido diariamente a las vacas por un hilo electrificado que se iba desplazando perpendicularmente al sentido longitudinal de cada subparcela. Después del ordeño de la

mañana, las vacas tenían acceso a una superficie no pastada de aproximada de 1250 m² (25 x 50 m) de pasto fresco, por lo que permanecían alrededor de 4 días en cada subparcela, siempre con acceso a un punto de agua fresca. Una vez finalizado el pastoreo en cada subparcela, se procedía al aporte de N en las cantidades citadas en el apartado de fertilización.

El pesado y mezcla de los componentes de las raciones de los animales estabulados se realizó en un carro autopropulsado de eje horizontal de 4 m³ de capacidad (Seko-Sam4, de SEKO Industries SRL, Curtarolo PD, Italia), adaptado a las características de la nave donde se llevaron a cabo los ensayos de alimentación. La cantidad total ofrecida por tratamiento se ajustó semanalmente, en función de los rechazos de la semana anterior, tratando de ofertar alrededor de un 10% más que el alimento consumido por las vacas. Las raciones se preparaban entre las 8.30 h y 10.30 h, permitiendo el acceso de los animales de los tratamientos T3 y T4 a los comederos a partir de las 11.00 h. y a partir de las 20.00 h en el caso del tratamiento T2. Las vacas tenían acceso libre a los comederos hasta las 8.00 h del día siguiente, hora a la que se iniciaba el proceso de vaciado y limpieza de los comederos, para su posterior llenado.

5.2.7. Toma de muestras y medidas de hierba en pastoreo

Tres días por semana, los lunes, miércoles y viernes, antes de la entrada del ganado en la zona con pasto fresco, se tomaron muestras de pasto para estimar la cantidad de pasto en oferta y el valor nutricional de la hierba. Utilizando un cuadrado metálico de 0.6 x 0.6 m de lado, se tomaron muestras mediante corte del pasto en tres lugares representativos de la nueva franja de pasto ofrecido a las vacas, y se tomaron otras tres muestras en las proximidades de cada punto de muestreo, a mano, intentando representar el pastoreo de las vacas mediante la técnica denominada de pastoreo simulado (“hand plucking”, Sollenberger y Cherney, 1995). El corte de la hierba se hizo en la superficie de muestreo (0.36 m²/punto) a una altura de unos 5 cm respecto del suelo con una cortadora eléctrica Makita UM164D (Makita S.A., Coslada, España). Las muestras de pastoreo simulado se tomaron en una cantidad aproximada de 500 g, a una altura aproximada de 6-7 cm del suelo. Las muestras se transportaron, refrigeradas, de forma inmediata al laboratorio.

Las muestras cortadas para estimar la cantidad de pasto en oferta se secaron en estufa de aire forzado (Unitherm, Russell-Lindsey Engineering, Birmingham, Inglaterra) a 80°C durante 16 h (Castro, 1996), mezclándolas una vez estaban secas, dando como resultado

una muestra por día, que se almacenó a 4°C hasta posteriores análisis fisicoquímico y de ácidos grasos. Las muestras de pastoreo simulado, a su llegada al laboratorio, se mezclaron y homogeneizaron, tomándose dos alícuotas, de las cuales una se secó en estufa a 80°C durante 16 h, almacenándola a 4°C hasta posteriores análisis fisicoquímico y de ácidos grasos, mientras que la otra se congeló a -18°C en bolsas al vacío para su posterior análisis de antioxidantes liposolubles.

La estimación de la cantidad de pasto en oferta se realizó a partir del peso fresco y seco de las muestras de hierba tomadas en los cuadrados de los puntos de muestreo. Se registró la superficie asignada diariamente a los grupos de vacas midiendo la longitud de cada nueva franja abierta al pastoreo, siendo conocida la anchura de las subparcelas (50 m).

5.2.8. Toma de muestras de ingredientes de mezclas TMR en el establo

Durante las 12 semanas de ensayo, todos los miércoles se tomaron muestras de los ingredientes de las raciones TMR y de la mezcla completa para análisis de su valor nutricional. Las muestras, refrigeradas, se trasladaron inmediatamente al laboratorio, donde, en el mismo día, se separaron en dos alícuotas, una de ellas se secó en estufa a 80°C durante 16 h, almacenándola a 4°C hasta posteriores análisis fisicoquímico y de ácidos grasos, mientras que la otra se congeló a -18°C en bolsas al vacío para su posterior análisis de antioxidantes liposolubles. Diariamente, a lo largo de todo el ensayo, se tomó muestra de cada ración TMR durante el vaciado del carro para determinar el contenido en MS de la ración diaria y poder calcular la ingestión voluntaria de los tratamientos ofrecidos en el comedero.

5.2.9. Toma de muestras de la leche producida durante el ensayo

Semanalmente se tomaron muestras de leche de cada vaca en los 2 ordeños del miércoles, mañana y tarde. Las muestras de leche constaron de cinco alícuotas de 50 ml cada una, tres con conservante Bronopol y dos sin conservante. Una de las muestras con conservante se trasladó refrigerada al LIGAL para la determinación de la composición fisicoquímica, congelándose a -18°C las restantes, una hasta su análisis en el CIAM por cromatografía de gases (ácidos grasos) y otra como reserva. Las alícuotas sin conservante también se congelaron a -18°C, una hasta su análisis en el CIAM por HPLC (antioxidantes) y otra como reserva.

5.2.10. Medida de la ingestión voluntaria de MS en comedero y la producción de leche de las vacas

El control de la ingestión de MS de las vacas estabuladas se realizó diariamente, combinando los datos aportados por el sistema de comederos monitorizados y el % MS obtenido de la toma de muestras diaria del unifeed. Por otra parte, la medida de la producción de leche de cada vaca en cada ordeño se registró diariamente de forma automática mediante el sistema citado anteriormente.

5.2.11. Peso y condición corporal de las vacas

El peso vivo y la condición corporal de las vacas se midió durante dos días consecutivos, tras el ordeño de mañana, al inicio del período preexperimental y al comienzo de las semanas 1, 4, 7 y 10, realizando una última pesada al final de la semana 12. El peso se midió utilizando una báscula tipo jaula (visor SMART, Lleida, España). Antes de la entrada en la báscula, las vacas debían pasar por una manga de manejo, equipada con una puerta donde trabar a los animales, momento en que se midió la condición corporal. Siguiendo la metodología indicada por Edmonson *et al.* (1989), se utilizó una escala desde el 1 (extremadamente delgada) hasta el 5 (obesa), con incrementos de 0.25 puntos, por lo que la escala constaba de 17 puntos. La medida se realizó siempre por el mismo personal entrenado, que, mediante observación y palpación de la columna vertebral (parte delantera del espinazo, lomo en la parte central y parte trasera), coxis, sacro y base de la cola, evaluó el recubrimiento graso.

5.2.12. Análisis fisicoquímico de los alimentos

El análisis de composición nutricional de los alimentos se realizó preferentemente mediante estimación NIRS (espectroscopía de infrarrojo cercano), utilizando las calibraciones disponibles en el CIAM. Las muestras de alimentos secadas en estufa fueron molidas a 1 mm en un molino de martillos (Christy&Norris, Ipswich, Inglaterra) y transcurrido un lapso de tiempo no inferior a 24 h se registró su espectro NIRS en un espectrofotómetro monocromador Foss NIRSystem 6500 (Foss NIRSystem, Silver Spring, Washington, USA), situado en una cámara isoterma ($24\pm1^{\circ}\text{C}$), provisto de un módulo de giro que realiza medidas de reflectancia en la región espectral comprendida entre 400 y 2500 nm, a intervalos de 2 nm. La recogida de los datos espectrales y el análisis quimiométrico de los mismos se llevó a cabo mediante el programa WinISI II v. 1.5 (Infrasoft International, Port Matilda, PA, USA, 2000). Las ecuaciones de predicción

desarrolladas en el CIAM (Pereira-Crespo *et al.*, 2012; Pereira-Crespo *et al.*, 2014; Pereira-Crespo *et al.*, 2015; Pereira-Crespo y Flores-Calvete, 2015) permiten estimar, para los forrajes frescos, los contenidos en materia orgánica, proteína bruta, fibra ácido detergente, fibra neutro detergente, carbohidratos solubles en agua, carbohidratos no estructurales totales y digestibilidad de la materia orgánica. Para los ensilados y el heno las calibraciones permiten la estimación de los contenidos en MO, PB, FAD, FND, DMO, ALM (en el caso del maíz), pH, ácidos acético y láctico, N amoniacal (N-NH₃) y N soluble (Nsol). En el caso de muestras “outliers”, muestras no reconocidas por las calibraciones NIRS disponibles, se analizaron en el laboratorio fisicoquímico del CIAM por métodos de referencia, ya citados en el anterior Capítulo II de esta tesis. El análisis de la composición química de los concentrados se realizó en el LIGAL, mediante NIRS, siguiendo procedimientos internos (LIGAL, 2019a).

5.2.13. Análisis fisicoquímico de la leche

La composición fisicoquímica de la leche fue analizada en el LIGAL según el procedimiento interno PE/LIGAL/34 (LIGAL, 2019b), mediante espectroscopía infrarroja FTMIR (Milkoscan, FOSS, Hillerød, Dinamarca). Las determinaciones realizadas fueron las concentraciones de materia grasa, materia proteica, lactosa, extracto seco magro, concentración de urea y punto crioscópico.

5.2.14. Análisis de ácidos grasos de los alimentos

La preparación de las muestras para el análisis de los ácidos grasos se realizó de igual forma que la preparación para el análisis fisicoquímico. Se adoptó esta metodología por ser la que mejor se adapta a las rutinas de trabajo del laboratorio de cromatografía del CIAM en función de los resultados expuestos por Arvidson *et al.* (2009b) y de trabajos previos realizados en el CIAM (T. Dagnac, datos no publicados), relativos a la comparación de métodos de preparación de la muestra de forraje antes de la extracción de AG. Sobre la muestra molida se realizó de forma simultánea la extracción y metilación de los AG mediante adaptación del procedimiento propuesto por Sukhija y Palmquist (1988). Se añadieron 1 ml de tolueno, 1 ml de patrón interno C19:0 (1 mg/ml) y 3 ml de disolución de ácido clorhídrico metanólico (preparado a partir de acetyl cloruro y metanol) a 250 mg de muestra de forraje. Después de una agitación de un minuto en un agitador tipo vórtex (Velp Scientífica Zx³, Milán, Italia), la muestra se incubó durante 2 horas en un baño de agua a 70°C (Selecta Tectron BIO 200, Barcelona, España). A continuación, la solución se enfrió

a temperatura ambiente, para posteriormente añadir 5 ml de disolución de carbonato potásico al 6%, 2 ml de hexano, 1 g de sulfato sódico anhidro y 2 g de carbón activado. La mezcla se centrifugó durante 5 min (2500 rpm, 20°C) en una centrifugadora Selecta Medifriger BL-S (Barcelona, España) evaporando inmediatamente la fase orgánica (sobrenadante) en corriente de nitrógeno, hasta obtener un residuo aceitoso que se disolvió en 0.8 ml de hexano, siendo congelado hasta su posterior análisis por cromatografía de gases.

Los ésteres metílicos de los ácidos grasos se separaron, identificaron y cuantificaron utilizando un equipo TRACE Ultra (Thermo Fisher Scientific, Madrid, España) con detector de ionización de llama (FID), autosampler modelo AI/AS 3000 (Thermo Fisher Scientific) y software Chrom Card Gas Chromatography Dáche System (Thermo Fisher Scientific). Se utilizó una columna capilar de sílice SPTM_2560 (100 m x 0.25 mm i.d., 0.2 µm de grosor de película) y el gas portador fue helio con un flujo de 0.6 ml/min. Las temperaturas del inyector y detector fueron 250 y 260°C, respectivamente. El volumen de inyección fue de 1 µL fijando la temperatura inicial de la columna a 140°C durante 5 min, incrementada posteriormente a 200°C con un flujo de 4°C/min, manteniendo esta temperatura durante 5 min. Finalmente, la temperatura subió a 240°C con un flujo de 3°C/min durante 5 min, manteniéndose así durante 38 min. Cada ácido graso fue cuantificado a través de calibración interna utilizando como patrones internos los ácidos C9:0, C17:1 y C20:2 metilados.

5.2.15. Análisis de ácidos grasos de la leche

Los procedimientos de la extracción de la grasa de la leche (Norma Internacional ISO 14156:2001/IDF 172, 2001), la formación de los ésteres metílicos (Norma ISO 15884:2002/IDF 182, 2002), el análisis por cromatografía de gases (equipo Varian 3900 GC – FID con columna capilar BPX70) y la identificación y cuantificación de los ésteres metílicos de los AG se realizaron como se indicó anteriormente en el Capítulo II de esta tesis. Mediante esta metodología fue posible identificar y cuantificar un total de 45 AG individuales en las muestras de leche.

5.2.16. Análisis de antioxidantes de los alimentos y la leche

La extracción/purificación de los carotenoides (xantofilas y carotenos) y vitaminas en los alimentos y la leche se realiza siguiendo metodologías diferentes, mientras que los siguientes pasos, identificación y cuantificación, son similares.

En los alimentos suministrados a las vacas, la extracción se realizó según la metodología propuesta por Chauveau-Duriot *et al.* (2010), basada en los métodos previamente descritos por Britton *et al.* (1995) y Cardinault *et al.* (2008). Las muestras de alimento se congelaron el día del muestreo a -18°C en bolsas al vacío, en una envasadora al vacío Tecnotrip EV-15-1CD (Terrassa, España). Las muestras no deben permanecer más de un mes congeladas antes de su análisis, con el fin de minimizar pérdidas de vitamina E y de carotenoides, independientemente de las especies estudiadas. Para la extracción, cada muestra se picó con ayuda de N₂ líquido en una picadora Robot Coupe R6 (Vincennes, Francia), tomando una submuestra para la determinación de la humedad. Todo el procedimiento de preparación de muestra se realizó con luz tenue, usando material cubierto con papel de aluminio, vidrio ámbar y se adicionó un antioxidante (0.1% de butilhidroxitolueno, BHT) a los solventes empleados. A la muestra picada de alimento (500 mg) se le añadió NaHCO₃ como agente neutralizante. Los compuestos lipofílicos se extrajeron con acetona 3 veces y en el extracto combinado se le añadieron los subrogados correspondientes (200 µL de una solución [echinenone] = 10 ppm y 150 µL de [δ -tocopherol] = 3 ppm). A continuación, se llevaron a cabo los lavados con agua y partición a éter de petróleo (EP). Las fases orgánicas combinadas se evaporaron bajo corriente de nitrógeno y el residuo seco obtenido se saponificó con KOH en MeOH (5.5%, p/v), para eliminar los ésteres clorofílicos. La reacción se paró añadiendo agua y nuevamente se extrajeron los analitos a EP. Tras la centrifugación se obtuvieron dos fases, la superior, amarilla, contenía los compuestos de interés, mientras la inferior, verde, contenía clorofilas y sus productos de degradación. Se recogió la fase orgánica y se evaporó a residuo seco de nuevo, para reconstituir en la fase móvil (FM). Finalmente se filtró con filtro de jeringa (GHP, 0.22 µm, 13mm) a un vial ámbar para inyectar 10 µL en HPLC.

El procedimiento de extracción en la leche se realizó según la metodología descrita por Gentili *et al.* (2013), habiendo sido descritos los detalles del procedimiento en el Capítulo II de la presente tesis.

Para la detección y separación simultánea de carotenos, xantofilas y vitaminas (A y E), tanto en muestras de alimentos como de leche, se utilizó un sistema HPLC equipado con un detector UV-Vis (PDA) y otro de Fluorescencia (FD) acoplados en serie. El procedimiento de identificación y cuantificación de compuestos se realizó según la metodología indicada en el Capítulo II de esta tesis.

5.2.17. Cálculos realizados

Las estimaciones del contenido en energía neta leche de los forrajes (a partir de la concentración de materia orgánica digestible en la MS materia seca, DOMD), del contenido en energía neta de los concentrados (a partir del contenido en FAD) y de la ingestión de pasto en los tratamientos T1 y T2 (a partir del consumo de MS de concentrado o de ración TMR medido en el comedero y de la ingestión total de MS, según NRC, 2001), se realizaron siguiendo la misma metodología descrita en el Capítulo 5 de la presente tesis.

Los índices de calidad de los lípidos (ratio omega-6/omega-3, ratio hipo/hiper colesterolémico de Santos-Silva *et al.*, 2002 e índices aterogénico y trombogénico de Ulbrich y Southgate 1991) se calcularon asimismo como se detalla en el apartado correspondiente del Capítulo II de esta tesis.

5.2.18. Análisis estadístico de los resultados

Los datos fueron analizados estadísticamente utilizando el paquete estadístico SAS v. 9.4 (SAS Institute, 2012) como medidas repetidas en el tiempo utilizando el procedimiento MIXED de SAS v. 9.4.

Se consideraron cuatro períodos en el ensayo, de tres semanas cada uno: P1 de la semana 1ª a la 3ª, P2 de la 4ª a la 6ª, P3 de la 7ª a la 9ª y P4 de la 10ª a la 12ª. Para las variables medidas sobre el pasto la unidad experimental fue la media de los muestreos semanales. Para las variables medidas sobre las muestras de alimentos tomadas en establo la unidad experimental fue el valor semanal. Para las variables medidas sobre el animal la unidad experimental se tomó como la medida de los valores de cada vaca en cada semana. El modelo utilizado en el análisis de varianza de las medidas sobre los parámetros animales fue $y = \mu + \alpha T + \beta P + (\alpha\beta) T \times P + X_n + \varepsilon$, donde el tratamiento (T: de T1 a T4), el período (P: de P1 a P4) y su interacción se consideraron factores fijos. Para cada vaca e cada variable, los valores de producción de leche, días en leche, número de parto y peso vivo

obtenidos al final del período preexperimental se incluyeron en el modelo como covariables (X_n).

Las variables de porcentajes (x) fueron transformadas mediante la función $\arcsen\sqrt{x}$ antes de ser analizadas en el ANOVA. La separación de medias fue realizada mediante el procedimiento LSMEANS, aplicando el valor de la diferencia mínima significativa (d.m.s.)

entre dos medias calculado como $d.m.s. = t_{0.025, g.l.e} \times \sqrt{\frac{2MSE}{n}}$, donde $g.l.e$ son los grados de libertad del denominador del test F, MSE es el cuadrado medio del error y n es el número de observaciones por tratamiento.



5.3. RESULTADOS

5.3.1. Climatología y rendimiento de los cultivos ensilados para el experimento

En la Tabla 5.2 se muestran los valores medios de precipitación acumulada y temperatura media mensual del año 2016, en que se realizó el ensilado de la hierba y del maíz para el experimento, y del año 2017 en el cual se realizó el ensayo. El año 2016 fue más húmedo que la media pero con un verano seco y con temperaturas próximas a los valores normales, permitiendo obtener un rendimiento en el ensilado de la hierba en primavera de 6.6 t MS/ha y del maíz a comienzos de octubre de 11.5 t MS/ha, lo cual eleva la productividad neta de la rotación a 18.1 t MS/ha. Durante la realización del experimento en la primavera del año 2017, las precipitaciones fueron más bajas de lo normal en abril, pero algo más altas los dos meses siguientes, siendo la temperatura media en el período abril-junio más elevada de lo normal (+1.6 °C de media), con lo que las condiciones para el crecimiento del pasto fueron buenas.

Tabla 5.2.- Precipitación acumulada y temperaturas medias mensuales en los años 2016 y 2017 en la estación de la finca experimental de Mabegondo

	Precipitación acumulada, mm			Temperatura media °C		
	2016	2017	Media 25 años [§]	2016	2017	Media 25 años [§]
Enero	302	59	137	10.5	7.6	8.9
Febrero	253	209	108	9.3	10.0	8.8
Marzo	222	147	104	9.2	11.3	10.6
Abril	111	22	99	10.8	12.9	11.7
Mayo	126	98	80	14.3	16.5	14.2
Junio	53	54	47	17.1	18.2	16.9
Julio	2	11	31	19.8	19.2	18.6
Agosto	17	39	34	19.5	19.1	19.0
Septiembre	100	38	53	17.4	16.6	17.3
Octubre	41	25	137	14.4	15.5	14.8
Noviembre	141	62	157	10.0	9.8	11.0
Diciembre	53	184	131	9.8	8.4	9.4
Anual	1421	947	1117	13.5	13.8	13.4

[§] Media de los últimos 25 años en Mabegondo

5.3.2. Crecimiento del pasto

El nivel medio de pasto en oferta en la parcela de pastoreo, medido cuando las vacas entraban en la nueva área de pasto ofrecido diariamente, fue 2884 kg MS/ha, con una altura de pasto de 21.6 cm. Los valores medios de los cuatro períodos fueron 2615, 2722, 3504 y 2691 kg MS/ha y 20.7, 21.4, 25.3 y 19.0 cm de altura, respectivamente (Tabla 5.3). El nivel de pasto residual post-pastoreo cuando se retiraban las vacas a una nueva zona de pasto fue, de media, 1913 kg MS/ha con una altura de la hierba de 12.0 cm, siendo los

valores de los períodos 1 a 4 de 1530, 1813, 2380 y 1926 kg MS/ha y la altura media de la hierba 11.5, 12.4, 14.2 y 9.9 cm, respectivamente. El número medio de rotaciones en la misma parcela fue de 3.36, con un aporte medio total de N en cobertera de 118 kg/ha para el conjunto del experimento.

Considerando la superficie de hierba fresca asignada diariamente al rebaño (1250 m²), resulta una disponibilidad de pasto de 360 kg MS/día para el total de animales, con 30.0 kg MS/vaca y día si consideramos 12 animales y de 40.0 kg MS/vaca y día si se tiene en cuenta que el grupo T2 solamente está durante el día en el pasto. La medida de la densidad del pasto ofreció un valor medio de 3601±1649 tallos de raigrás/m².

Tabla 5.3.- Pasto en oferta y altura de la hierba en la parcela de pastoreo

	Pasto en oferta, kg MS/ha		Altura de pasto en la parcela (cm)	
	Pre-pastoreo	Post-pastoreo	Pre-pastoreo	Post-pastoreo
Período 1				
Media	2615.9	1530.2	20.7	11.5
std	320.7	511.8	3.3	1.9
Período 2				
Media	2722.6	1813.4	21.4	12.4
std	663.2	538.2	3.2	2.5
Período 3				
Media	3504.6	2380.4	25.3	14.2
std	831.5	592.3	4.2	4.0
Período 4				
Media	2691.3	1926.6	19.0	9.9
std	383.7	657.7	3.3	2.3

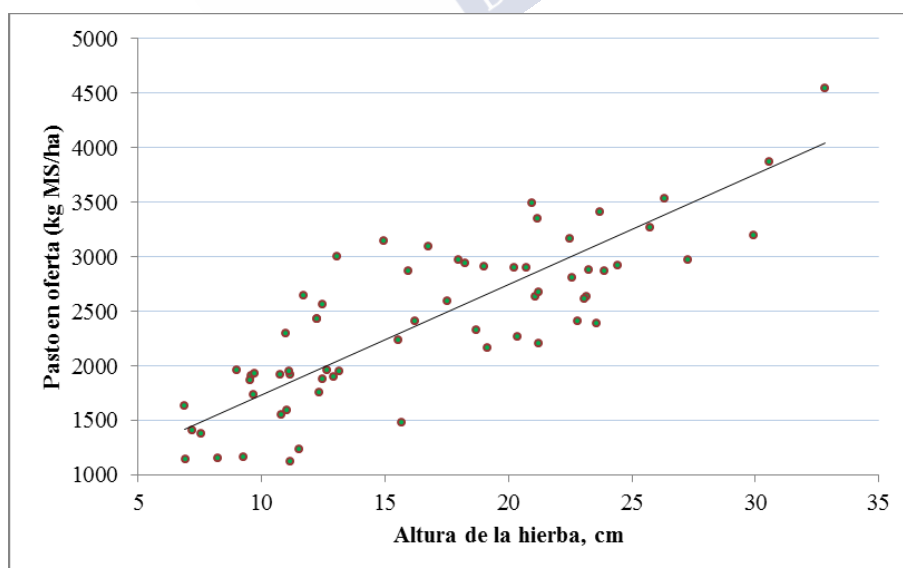
std.: desviación estándar de la media; Período 1: 10 -30 abril; Período 2: 1 -21 mayo; Período 3: 22 mayo-11 junio; P4: 12 junio-2 julio

Los valores de pasto en oferta y de disponibilidad de pasto están en un rango medio-alto, toda vez que en el diseño del ensayo se procuraba que la ingestión voluntaria de hierba por las vacas en pastoreo no estuviese limitada por la disponibilidad de pasto, a la vez que no se comprometiese la calidad del rebrote de la hierba. Son comparables con los indicados en la bibliografía, donde diversos autores, como Gordon *et al.* (2000) y Ferris *et al.* (2002) sugieren que disponibilidades de pasto próximos a 25 kg MS/vaca e día, permitirían obtener una adecuada producción de leche sin comprometer la productividad de la pradera, indicando McEvoy *et al.* (2008) que valores de pasto en oferta cercanos a los 2000 kg MS/ha permiten un adecuado mantenimiento de la pradera y una alta productividad por hectárea. El valor de densidad es más bajo que los habitualmente referenciados en la literatura científica para praderas de raigrás inglés en zonas templado-húmedas, pero se debe tener en cuenta que las condiciones de la zona atlántica donde se sitúa la finca de

Mabegondo el efecto de la sequía estival sobre las praderas se hace notar todos los años, con mayor o menor intensidad, reduciendo la densidad de tallos existente en primavera. En todo caso se debe tener en cuenta la existencia de un mecanismo compensador entre la densidad de plantas y el peso unitario de cada planta, indicando Matthew *et al.* (1996) que, en condiciones de Nueva Zelanda, sería de esperar una densidad media de 5000 tallos/m² en pastos aprovechados por vacas lecheras y de 20 000 tallos/m² para praderas pastadas a fondo con ovinos, indicando una relación aproximada de 5:1 para los pesos de cada tallo en ambos tipos de pastos, con lo que la productividad por hectárea del pasto de vacas, menos denso, sería igual o superior al pasto apurado por los ovinos.

La relación observada entre la cantidad de pasto en oferta y la altura de la hierba se muestra en la Figura 5.1, siendo explicado el 69% de la varianza del valor de pasto en oferta por la medida de la altura, cuya relación se describe por la siguiente ecuación de regresión: $PO \text{ (kg MS/ha)} = 716.5 (\pm 146.9)^{***} + 101.4 (\pm 8.19)^{***} \times H \text{ (cm)}$, donde PO es el valor del pasto en oferta y H la altura de la hierba medida con la regla graduada, con valores medios de 2403.4 kg MS/ha, error estándar residual (o error mínimo de estimación para valores próximos a la media) de ± 452.9 kg MS/ha, coeficiente de variación 18.8%, R^2 : 0.69 y $p < 0.0001$.

Figura 5.1.- Relación entre pasto en oferta y altura de la hierba durante el pastoreo



5.3.3. Valor nutricional de los alimentos utilizados en el experimento

5.3.3.1. Los pastos

Los valores medios de composición química y digestibilidad del pasto a lo largo del experimento se muestran en la Tabla 5.4, donde se comparan los valores para la muestra cortada a 5 cm del suelo y la de pastoreo simulado y en la Tabla 5.5, donde se indica la evolución del valor nutricional de la muestra de pasto tomada como pastoreo simulado a lo largo de las doce semanas del ensayo.

La hierba tomada mediante la técnica de pastoreo simulado mostró una calidad algo más alta comparada con la técnica de corte, sobre todo en cuanto al contenido en PB (+36%), toda vez que en aquella se representa la parte superior del pasto, más accesible a la boca de la vaca. El valor medio de MS para la muestra de pastoreo simulado fue del 16.9% y los valores medios de composición química (en %MS) fueron MO 88.4, PB 22.4, FAD 22.1, FND 43.8, CSA 13.0 y CNET 15.4. La digestibilidad fue del 75.3% y el valor energético de 1.49 Mcal /kg MS, ambas superiores a los valores de la muestra de pasto cortada (DMO 73.5% y ENL 1.46 Mcal/kg MS).

La calidad del pasto se mantuvo alta durante todo el experimento, sobre todo en lo que al contenido en PB se refiere, que pasó del 19.6% MS en el primer período a estabilizarse en el entorno del 23% en los tres siguientes. El efecto del avance de la estación y de la madurez del pasto se vio reflejado por un incremento de la fracción fibra, con valores de medios de FAD y FND en las primeras tres semanas de 20.5 y 40.6% MS que pasaron a 23.2 y 46.1% MS, respectivamente, en las tres semanas finales. Esta tendencia se manifestó de forma inversa para el contenido en CSA y CNET (18.6 y 21.4% MS en el período 1 y 11.0 y 12.9% MS en el período 4, respectivamente) y para los valores de digestibilidad y de energía neta, pasando la DMO de 77.9 a 73.1% y la ENL de 1.57 a 1.46 Mcal/kg MS, respectivamente, en los períodos inicial y final del ensayo.

La aplicación de fertilizante nitrogenado al finalizar el pastoreo de cada subparcela explicaría el mantenimiento de un pasto con abundancia de hojas y un alto nivel proteico, coincidiendo con una reducción del contenido en carbohidratos no estructurales, dada la relación negativa entre los contenidos en proteína y azúcares de la hierba (McGrath, 1991), si bien con el avance de la estación una parte de la hierba pudo llegar al estado de espigado, lo que se refleja en los mayores contenidos en fibra y menores de digestibilidad.

Tabla 5.4. Composición nutricional del pasto (valores medios de las 12 semanas del ensayo)

	Muestra cortada a 5 cm.		Pastoreo simulado	
	Media	std	Media	std
Materia seca (%)				
MS	17.7	3.79	16.9	2.35
Composición química (%MS)				
MO	89.0	0.97	88.4	0.83
PB	16.4	2.88	22.4	3.03
FAD	26.9	2.48	22.1	1.53
FND	49.8	4.21	43.8	2.93
CSA	14.5	5.49	13.0	4.84
CNET	16.0	5.79	15.4	5.09
Digestibilidad y valor energético				
DMO (%)	73.5	3.27	75.3	2.13
DOMD (%)	65.4	2.91	66.5	1.89
ENLm (Mcal/kg MS)	1.46	0.07	1.49	0.04
UFL/kg MS	0.86	0.04	0.88	0.02

std.: desviación estándar de la media; MS: materia seca; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; FAD: fibra ácido detergente; FND: fibra neutro detergente; CSA: carbohidratos solubles en agua; CNET: carbohidratos no estructurales; DMO: digestibilidad de la MO; DMOD: concentración de MO digestible en la MS; ENLm: energía neta leche a nivel de mantenimiento; UFL: unidades forrajeras leche (1 UFL=1.7 Mcal/kg MS)

5.3.3.2. Los forrajes conservados

En la Tabla 5.5 se muestran los valores medios de los ensilajes de hierba y de maíz, así como del heno, utilizados en el experimento. Comparados con típicos valores de las muestras de explotaciones lecheras recibidas en el laboratorio de servicio del LIGAL en los últimos años (Pereira-Crespo *et al.*, 2016), los valores medios del ensilaje de hierba utilizado en el ensayo es muy semejante para el contenido en MS (32.9%) y en PB (12.9% MS), siendo su digestibilidad (DMO 73.0%) casi casi diez puntos superior a los valores medios de las granjas, lo cual es muestra de la buena calidad nutricional de las mezclas de raigrás híbrido y tréboles anuales cuando el aprovechamiento se realiza a comienzos del mes de mayo. La calidad de fermentación fue excelente, con bajos valores de pH (3.84), de ácido acético (2.1% MS) y de N-NH₃ (6.4% N total) y altos valores de láctico (11.8% MS), lo que muestra la posibilidad de lograr una correcta conservación cuando se logra presecar el forraje a valores próximos al 30% MS y el resto del proceso de ensilado se hace siguiendo prácticas agronómicas correctas.

Para el ensilaje de maíz empleado en el ensayo los valores de MS (30.8%), DMO (67.9 %), PB (6.1% MS) y almidón (25.7% MS) fueron inferiores a los valores medios de las muestras del LIGAL, lo que se explica por la realización del ensilado del maíz para el

ensayo en un estado algo precoz al momento óptimo de aprovechamiento, ante la amenaza de lluvias que podrían comprometer el paso de maquinaria por las parcelas. Si bien como consecuencia de lo anterior la concentración energética (1.45 Mcal ENL/kg MS) fue inferior a lo esperado, la calidad fermentativa fue excelente, como es típico con este forraje ensilado, con bajos valores de pH (3.58), acético (2.6% MS) y N-NH₃ (9.5% N total) y valores medio-altos de ácido láctico (7.2% MS).

La calidad del heno fue baja, como es típico en este tipo de forraje (PB 7.4% MS, DMO 47.1%, ENL 0.91 Mcal/kg MS), reflejando el avanzado estado de madurez de la hierba en el momento de corte.

Tabla 5.5.- Composición químico-bromatológica de los ensilajes de hierba, maíz y henos utilizados en el experimento

	Ensilaje de hierba		Ensilaje de maíz		Heno	
	Media	std	Media	std	Media	std
Materia seca (%)						
MS	32.9	5.5	30.8	1.5		
Composición química (%MS)						
MO	90.4	0.7	95.7	0.6	93.5	0.6
PB	12.9	1.5	6.1	0.8	7.4	0.7
FAD	31.5	1.6	26.2	1.2	40.6	1.1
FND	45.3	2.0	-	-	66.3	4.4
ALM	-	-	25.7	3.0	-	-
Digestibilidad y valor energético						
DMO (%)	73.0	2.10	67.9	1.14	47.1	2.56
DOMD (%)	66.0	1.90	65.0	1.10	44.0	2.40
ENLm (Mcal/kg MS)	1.51	0.04	1.45	0.02	0.91	0.05
UFL/kg MS	0.89	0.03	0.85	0.01	0.54	0.03
Parámetros fermentativos						
pH	3.84	0.30	3.58	0.10	-	-
Láctico (%MS)	11.8	2.61	7.2	0.71	-	-
Acético (%MS)	2.1	0.40	2.6	0.64	-	-
N-NH ₃ (% Nt)	6.4	0.82	9.5	0.54	-	-
Nsol (%Nt)	54.4	4.67	57.6	2.96	-	-

std.: desviación estándar de la media; MS: materia seca; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; FAD: fibra ácido detergente; FND: fibra neutro detergente; ALM: Almidón; DMO: digestibilidad de la MO; DMOD: concentración de MO digestible en la MS; ENLm: energía neta leche a nivel de mantenimiento; UFL: unidades forrajeras leche (1 UFL=1.7 Mcal/kg MS); Láctico y Acético: ácidos de fermentación; Nsol: N soluble; Nt: nitrógeno total.

5.3.3.3. Concentrado

Los valores medios del concentrado comercial utilizado en el experimento se muestran en la Tabla 5.6, correspondiéndose con los valores normales para vacas de leche, con un contenido de PB del 24.6% MS y de ALM del 31.2% MS. Los aportes de vitaminas se hicieron en forma de retinol y sus ésteres (E-672, 15 000 UI/kg MS) para la vitamina A, de

Colecalciferol (E-671, 4 500 UI/kg MS) para la vitamina D y de all-rac- α Tocoferol para la vitamina E (60 mg/kg MS). El aporte del ácido graso alfa-linolénico, calculado a partir de las concentraciones de los ingredientes del pienso (FEDNA, 2012) fue de 0.9 g/kg MS.

Tabla 5.6.- Composición nutricional del concentrado

	2017	
	Media	std
Materia seca (%)		
MS	86.6	0.19
Composición nutricional (%MS)		
MO	94.6	0.32
PB	24.6	1.46
FB	6.4	0.36
FAD	7.8	0.96
FND	21.5	2.82
EE	3.9	0.17
ALM	31.2	1.47
Valor energético		
ENLm (Mcal/kg MS)	1.99	0.01
Vitaminas		
Vitamina A (UI/kg MS)	15000	
Vitamina D3 (UI/kg MS)	4500	
Vitamina E (alfa-tocoferol, mg/kg)	60	
Ácidos grasos (% MS)		
Alfa-linolénico	0.08	0.005
% alfa-linolénico s/EE	2.1%	-

std.: desviación estándar de la media; cv: coeficiente de variación; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; FAD: fibra ácido detergente; FND: fibra neutro detergente; FB: fibra bruta; EE: extracto etéreo; ENLm: energía neta leche a nivel de mantenimiento; UFL: unidades forrajeras leche (1 UFL=1.7 Mcal/kg MS)

5.3.3.4. Raciones completas

En la Tabla 5.7 se muestra la composición de las raciones TMR ofrecidas a los grupos de los tratamientos T2, T3 y T4. Como se puede observar los valores de MO, EE, PB, FB, FAD y FND fueron muy semejante entre tratamientos, con estrechos rangos de variación (MO: 92.6-94.0% MS, EE: 3.3-3.4% MS, PB: 14.0-14.7% MS, FB: 17.7-17.9% MS, FAD: 20.8-24.2% MS y FND: 39.0-40.0% MS. El contenido en MS fue de 45.9, 43.1 y 51.8% y la concentración energética fue de 1.63, 1.53 y 1.58 Mcal /kg MS, reflejando la diferente composición en cuanto a los ingredientes de cada tratamiento.

Tabla 5.7.- Composición de la ración TMR utilizada en el experimento de 2017

	Tratamiento					
	T2		T3		T4	
	Media	std	Media	std	Media	std
Materia seca (%)						
MS	45.9	2.21	43.1	3.12	51.8	2.16
Composición química (%MS)						
MO	94.0	0.36	92.6	0.32	93.2	0.32
EE	3.4	0.15	3.3	0.11	3.4	0.12
PB	14.0	1.08	14.6	0.72	14.7	0.71
FB	17.9	0.98	19.0	0.78	17.7	0.74
FAD	21.3	1.20	24.2	0.86	20.8	0.94
FND	39.6	1.49	40.4	1.21	39.0	1.14
ALM	27.4	1.30	20.4	1.45	26.1	1.60
Digestibilidad y valor energético						
DMO (%)	73.0	1.40	70.3	1.04	71.9	1.13
DOMD (%)	68.6	1.31	65.1	0.96	67.0	1.06
ENLm (Mcal/kg MS)	1.63	0.03	1.53	0.02	1.58	0.02
UFL/kg MS	0.96	0.02	0.90	0.01	0.93	0.01

T2: pastoreo diurno+TMR (20% pienso); T3: TMR (37% pienso); T4: TMR (52% pienso); std.: desviación estándar de la media; MS: materia seca; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; FAD: fibra ácido detergente; FND: fibra neutro detergente; ALM: Almidón; DMO: digestibilidad de la MO; DMOD: concentración de MO digestible en la MS; ENLm: energía neta leche a nivel de mantenimiento; UFL: unidades forrajeras leche (1 UFL=1.7 Mcal/kg MS).

5.3.4. Perfil de ácidos grasos de los alimentos

5.3.4.1. Los pastos

En la Tabla 5.8 se indica el perfil de AG de la hierba, comparando la muestra de pastoreo simulado y la cortada a 5 cm. Al igual que sucediera para los resultados de valor nutricional, la muestra de pastoreo simulado es más rica en cuanto a la concentración de AG totales (AGt), comparada con la tomada mediante corte a un nivel más bajo (16.9 vs. 12.2 g/MS), reflejando el contenido de una mayor fracción de hojas fotosintéticamente activas en el primer caso. El perfil de AG, expresado como proporción de cada AG respecto al total reprodujo el típico modelo poliinsaturado del pasto en un estado poco maduro. Las fracciones saturada (SFA), monoinsaturada (MUFA) y poliinsaturada (PUFA) representaron, respectivamente, el 18.7, el 1.45 y el 79.7% del total de AG para la muestra de pastoreo simulado. Los AG más importantes fueron el alfa-linolénico, el palmítico y el linoleico, por este orden, representando el 67.2, el 14.1 y el 11.6% AGt, respectivamente. Los demás AG identificados no superaron el 1% AGt, con la salvedad del esteárico (C18:0) cuya proporción fue del 1.2% AGt.

Tabla 5.8.- Perfil de ácidos grasos del pasto: Valores medios del experimento

	Muestra cortada a 5 cm.		Pastoreo simulado	
	Media	std	Media	std
Perfil de AG (% AG total)				
C12:0	0.82	0.16	0.88	0.12
C14:0	0.28	0.08	0.20	0.05
C15:0	0.25	0.05	0.22	0.03
C16:0	15.23	1.22	14.16	0.91
C16:1	0.19	0.06	0.14	0.03
C17:0	0.21	0.05	0.19	0.04
C18:0	1.37	0.23	1.21	0.15
C18:1n9c	1.83	0.45	0.99	0.24
C18:2n6c	12.52	1.34	11.68	1.17
C18:3n6	0.37	0.07	0.41	0.05
C18:3n3	63.85	2.24	67.20	1.83
C20:0	0.39	0.15	0.40	0.06
C20:1	0.30	0.05	0.27	0.02
C20:3n3	0.28	0.08	0.26	0.04
C20:4n6	0.21	0.09	0.23	0.05
C22:0	1.00	0.18	0.70	0.12
C22:1n9	0.09	0.03	0.06	0.01
C24:0	0.83	0.25	0.82	0.17
SFA	20.37	1.81	18.78	1.19
MUFA	2.39	0.54	1.45	0.26
PUFA	77.24	2.12	79.77	1.31
Concentración de AG (g/kg MS)				
AG Total	12.23	1.51	16.97	1.53

std.: desviación estándar de la media; AG: ácidos grasos; SFA: AG saturados; MUFA: AG monoinsaturados; PUFA: AG poliinsaturados

En la Tabla 5.9 se indica la evolución del perfil de AG del pasto a lo largo de la primavera, para la muestra tomada por pastoreo simulado. Como se puede observar, la concentración de AGt se mantiene relativamente estable durante todo el experimento en un rango entre 16.0 y 17.8 g/kg MS, destacándose que el menor valor se obtuvo para el primer período, lo que indica que la fertilización nitrogenada entre pastoreos sucesivos permite mantener durante la primavera una alta concentración de AGt en la materia seca de la hierba. El perfil de AG se mantuvo también estable durante todo el ensayo con valores oscilando entre 66.3 y 68.2% AGt para ALA, entre 13.7 y 14.6% AGt para palmítico y entre 10.6 y 11.4% AGt para LA.

Tabla 5.9.- Evolución del perfil de ácidos grasos del pasto durante la primavera

	Período 1		Período 2		Período 3		Período 4	
	Media	std	Media	std	Media	std	Media	std
Perfil de AG (% AG total)								
C12:0	0.76	0.08	0.87	0.07	0.90	0.08	1.03	0.07
C14:0	0.15	0.05	0.20	0.03	0.22	0.03	0.26	0.02
C15:0	0.21	0.03	0.20	0.04	0.21	0.02	0.25	0.02
C16:0	14.60	0.92	14.36	0.98	13.88	0.63	13.70	1.00
C16:1	0.12	0.02	0.12	0.02	0.15	0.03	0.17	0.03
C17:0	0.20	0.04	0.17	0.03	0.17	0.03	0.20	0.03
C18:0	1.13	0.17	1.30	0.15	1.24	0.12	1.17	0.16
C18:1n9c	1.07	0.32	0.88	0.20	0.97	0.26	1.07	0.10
C18:2n6c	10.68	1.36	11.85	0.75	12.69	0.89	11.43	0.47
C18:3n6	0.39	0.04	0.39	0.03	0.40	0.05	0.47	0.05
C18:3n3	68.25	1.89	66.86	2.16	66.32	1.54	67.41	1.38
C20:0	0.37	0.06	0.41	0.04	0.42	0.06	0.38	0.06
C20:1	0.25	0.01	0.26	0.02	0.27	0.02	0.30	0.02
C20:3n3	0.29	0.03	0.25	0.04	0.25	0.03	0.26	0.03
C20:4n6	0.18	0.05	0.21	0.03	0.24	0.04	0.28	0.04
C22:0	0.66	0.12	0.75	0.13	0.72	0.07	0.67	0.15
C22:1n9	0.05	0.01	0.05	0.01	0.06	0.01	0.06	0.01
C24:0	0.65	0.17	0.88	0.15	0.89	0.10	0.89	0.11
SFA	18.73	1.26	19.14	1.47	18.65	0.79	18.55	1.45
MUFA	1.49	0.32	1.31	0.23	1.45	0.28	1.60	0.09
PUFA	79.79	1.44	79.55	1.60	79.90	0.96	79.84	1.51
Concentración de AG (g/kg MS)								
AG total	16.00	1.66	17.29	1.12	17.82	1.36	16.70	1.42

Período 1: 10 -30 abril; Período 2: 1 -21 mayo; Período 3: 22 mayo-11 junio; P4: 12 junio-2 julio
 std.: desviación estándar de la media; AG: ácidos grasos; SFA: AG saturados; MUFA: AG mono-insaturados; PUFA: AG poliinsaturados

5.3.4.2. Ensilajes de hierba y de maíz

Los valores medios del perfil de AG de los ensilajes de hierba y de maíz utilizados en el experimento se muestran en la Tabla 5.10. Se destaca, en primer lugar, las diferencias en la concentración de AGt y en la composición del perfil de AG entre el ensilaje de hierba y el pasto consumido a diente por las vacas, con una concentración de ácidos grasos en la MS del ensilaje (AGt: 6.9 g/kgMS) que es menos de la mitad de la del pasto fresco, conjuntamente con una proporción más saturada del perfil (SFA: 41.8, MUFA: 4.3, PUFA: 53.8% AGt), a expensas de la proporción de alfa-linolénico (valores medios, en %AGt, de 35.6 para ALA, de 30.4 para palmítico y de 16.6 para LA). Aunque no se pueden descartar diferencias en los valores de AG de ambos forrajes en estado fresco, debido a la diferente composición de especies sembradas, la mayor parte de las diferencias se atribuyen, por un lado, al estado de madurez más avanzado de la hierba cuando se aprovecha como ensilado

y, por otro, al proceso de secado de la hierba en el campo como parte del proceso de ensilado.

En cuanto al ensilaje de maíz, reproduce el típico perfil de este cereal, con valores de 7.1% MS para el total de AG y predominio del perfil insaturado (SFA: 62.4, MUFA: 20.5, PUFA: 62.4% AGt) donde se destaca la mayor proporción de monoinsaturados, debido a la importante contribución del ácido oleico con 18.1% AGt, que es el segundo AG en orden de importancia, por detrás de LA (56.5% AGt) y palmítico (11.8% AGt). El ALA, mayoritario en la hierba fresca y ensilada, mostró una proporción del 5.6% AGt, seguido del esteárico con el 4.3% AGt, sin que ninguno de los restantes AG supere el 1% del total, lo que es indicativo de las diferencias en la composición de AG entre los pastos frescos y ensilados y la planta de maíz.

Tabla 5.10.- Perfil de ácidos grasos de los ensilajes de hierba y de maíz

	Ensilaje de hierba		Ensilaje de maíz	
	Media	std	Media	std
Perfil de AG (% AG total)				
C12:0	1.82	0.41	0.64	0.22
C14:0	0.52	0.18	0.15	0.08
C15:0	0.56	0.18	0.11	0.01
C16:0	30.45	6.80	11.81	9.59
C16:1	0.05	0.04	0.94	0.30
C17:0	0.37	0.13	0.08	0.02
C18:0	3.47	0.70	4.31	0.79
C18:1n9c	3.72	0.79	18.19	2.60
C18:2n6c	16.64	3.13	56.65	7.47
C18:3n6	0.86	0.32	0.00	0.00
C18:3n3	35.62	13.47	5.61	2.37
C20:0	0.92	0.50	0.02	0.01
C20:1	0.45	0.11	0.69	0.09
C20:3n3	0.27	0.17	0.00	0.00
C20:4n6	0.43	0.17	0.19	0.07
C22:0	2.14	0.64	0.17	0.14
C22:1n9	0.12	0.03	0.22	0.07
C24:0	1.60	0.65	0.21	0.02
SFA	41.85	9.75	17.50	3.11
MUFA	4.33	0.78	20.05	2.39
PUFA	53.82	10.01	62.45	6.71
Concentración de AG (g/kg MS)				
AG total	6.93	1.87	7.11	1.86

std.: desviación estándar de la media; AG: ácidos grasos; SFA: AG saturados; MUFA: AG mono-insaturados; PUFA: AG poliinsaturados

5.3.5. Contenidos en vitaminas y carotenoides de los alimentos

5.3.5.1. Los pastos

En la Tabla 5.11 se muestran los valores medios de las muestras de hierba, tomadas con la técnica de pastoreo simulado, en vitaminas A, E y carotenoides (xantofilas y carotenos), a lo largo del pastoreo de primavera. Como media de las doce semanas del ensayo, el contenido en α -tocoferol (el isómero mayoritario de la vitamina E) fue de 88.0 mg/kg MS, siendo una 15 veces inferior el contenido del isómero γ -tocoferol, con 5.2 mg/kg MS. El contenido en carotenoides totales fue de 345.3 mg/kg MS, siendo prácticamente igual el aporte de xantofilas y carotenos (171.2 y 174.1 mg/kg MS, respectivamente). Entre las xantofilas, las concentraciones más importantes (en mg/kg MS), fueron para Luteína (91.7), Violaxantina (39.5), Neoxantina (28.9), Zeaxantina (6.5), Antheraxantina (3.3) y β -criptoxantina (1.3). Entre los carotenos, el mayoritario fue el all-*trans*- β -Caroteno (144.9 mg/kg MS) seguido del 13*cis*- β -Caroteno (18.6 mg/kg MS) y del 9*cis*- β -Caroteno (10.6 mg/kg MS).

En cuanto a la evolución con el avance de la estación se muestra una tendencia cuadrática con un máximo de concentración de vitamina E y carotenoides en el período 3 aunque, de forma general, se mantiene una alta concentración de estos micronutrientes en el pasto durante toda la primavera, coincidiendo con los resultados de valor nutricional y concentración de ácidos grasos indicada anteriormente

Tabla 5.11.- Contenido en vitamina E y carotenoides del pasto durante la primavera

	Período 1		Período 2		Período 3		Período 4	
	Media	std	Media	std	Media	std	Media	std
Vitamina E (mg/kg MS)								
α -tocoferol	73.41	29.67	79.63	18.22	102.95	30.70	95.93	59.83
γ -tocoferol	5.22	1.62	4.91	0.20	5.78	0.14	4.99	4.42
Xantofilas (mg/kg MS)								
Neoxantina	20.43	4.21	31.82	4.86	41.79	5.55	21.41	16.43
Violaxantina	33.12	4.48	44.37	7.89	55.54	3.90	25.16	18.49
Antheraxantina	2.82	0.88	3.69	0.54	4.41	1.06	2.36	1.20
Luteína	76.08	16.86	94.11	11.73	135.51	11.93	61.25	45.54
Zeaxantina	6.41	1.78	7.19	1.07	8.22	1.50	4.29	2.67
β -Criptoxantina	0.88	0.21	1.08	0.20	2.09	0.41	0.99	0.56
Carotenos (mg/kg MS)								
all- <i>trans</i> - β Caroteno	98.12	22.03	155.27	25.20	204.22	61.79	121.99	81.16
13 <i>cis</i> - β Caroteno	13.41	2.91	20.04	3.27	25.90	6.61	15.09	10.45
9 <i>cis</i> - β Caroteno	6.61	1.23	11.04	1.62	15.26	4.17	9.54	7.23

Período 1: 10 -30 abril; Período 2: 1 -21 mayo; Período 3: 22 mayo-11 junio; P4: 12 junio-2 julio

std.: desviación estándar de la media

5.3.5.2. Ensilajes, henos y concentrados

El ensilaje de hierba mostró valores de vitamina E y carotenoides marcadamente inferiores a los del pasto fresco, reproduciendo el efecto combinado de la madurez de la planta y el presecado en el campo sobre la reducción de la concentración de estos compuestos (Tabla 5.12). El contenido medio de α -tocoferol fue de 42.5 mg/kg MS y el de γ -tocoferol de 4.4 mg/kg MS. La concentración total de carotenoides fue de 114.4 mg/kg MS, representando xantofilas y carotenos el 47 y 53% del total, aproximadamente en la misma proporción que la observada en los pastos frescos. Las xantofilas mayoritarias fueron Luteína, Violaxantina y Neoxantina, con valores medios de 76.0, 33.1 y 20.4 mg/kg MS y los carotenos all-*trans*, 13*cis* y 9*cis* β -Caroteno con 49.6, 8.4 y 2.9 mg/kg MS.

Comparado con el ensilaje de hierba, el ensilaje de maíz tuvo un contenido semejante en α -tocoferol (44.0 mg/kg MS), siendo el de γ -tocoferol proporcionalmente mucho más elevado (14.8 mg/kg MS), mientras que los de xantofilas (13.4 mg/kg MS) y carotenos (18.3 mg/kg MS) representaron, aproximadamente, el 25 y el 30% del contenido del ensilaje de hierba en estos compuestos.

El heno es una pobre fuente de vitaminas y carotenoides, en consonancia con el avanzado estado de madurez del pasto en el momento de corte y el extensivo secado en el campo al que es sometido para el correcto curado de la hierba. Comparado con los valores medios del pasto fresco y del ensilaje de hierba, el heno utilizado en el ensayo aportaría, por unidad de MS, respectivamente, el 7 y el 14% de los valores unitarios de α -tocoferol, el 2 y el 6% del de carotenoides totales, el 3 y el 11% del de xantofilas y únicamente el 1 y 2% del de carotenos.

Los valores medios de α -tocoferol (34.4 mg/kg MS) y de γ -tocoferol (12.3 mg/kg MS) muestran que el concentrado es, como el ensilaje de maíz, una fuente importante de vitamina E en la alimentación de la vaca, pero mucho más pobre en carotenoides, con valores medios de 1.4 g/kg MS de carotenoides totales. Por unidad de materia seca el concentrado representa, aproximadamente, el 0.4% del contenido en carotenoides totales del pasto y el 1.3%, el 4.7% y el 22.6% de los del ensilaje de hierba, del ensilaje de maíz y del heno, respectivamente.

Tabla 5.12.- Contenido en vitamina E y carotenoides de los ensilajes de hierba y maíz, heno y concentrados

	Ensilaje de hierba		Ensilaje de Maíz		Heno		Concentrado	
	Media	std	Media	std	Media	std	Media	std
Vitamina E (mg/kg MS)								
α -tocoferol	42.56	12.09	44.03	11.22	5.95	2.03	34.47	9.24
γ -tocoferol	4.49	1.12	14.87	3.73	1.43	0.40	12.30	1.47
Xantofilas (mg/kg MS)								
Neoxantina	0.74	0.290	0.15	0.081	0.31	0.260	0.03	0.004
Violaxantina								
Anteraxantina	0.141	0.040	0.043	0.010	0.028	0.010	0.01	0.001
Luteína	49.9	12.47	11.51	2.085	4.87	1.884	0.90	0.079
Zeaxantina	1.74	0.328	1.07	0.228	0.43	0.102	0.18	0.123
β -Criptoxantina	0.89	0.300	0.35	0.080	0.012	0.006	0.11	0.023
Carotenos (mg/kg MS)								
all- <i>t</i> - β Caroteno	49.6	14.95	14.8	5.14	0.69	0.238	0.13	0.037
13 <i>cis</i> - β Caroteno	8.40	2.52	2.56	0.926	0.130	0.040	0.06	0.011
9 <i>cis</i> - β Caroteno	2.92	0.802	0.92	0.294	0.094	0.026	0.07	0.010

std.: desviación estándar de la media

5.3.6. Resultados productivos del ensayo de alimentación con vacas de leche

Los valores de producción de leche y su composición fisicoquímica fueron fuertemente modificados por la alimentación (Tabla 5.13). El tratamiento T4, con mayor nivel de almidón (TMR a base de ensilado de maíz y 52% de concentrado) mostró valores significativamente superiores al resto de los tratamientos en producción de leche y de sólidos de la leche, seguido por los tratamientos T3 (TMR a base de ensilajes de maíz y hierba y 37% concentrado) y T2 (pastoreo diurno, TMR a base de ensilaje de maíz y 20% concentrado), que no se diferenciaron entre sí, mientras que los del tratamiento T1 (pastoreo día y noche, 10% de concentrado) fueron significativamente inferiores a los del resto de grupos.

Los valores medios de producción de leche corregida en grasa y proteína (FPCM) para los tratamientos T1 a T4 fueron de 38.5, 35.3, 34.7 y 30.6 kg FPCM/vaca y día, respectivamente, mientras que los de grasa (MG), proteína (MP), extracto seco magro (ESM) y sólidos totales (MG+ESM) fueron de 1.04, 1.22, 1.24 y 1.34 kg para MG, de 0.96, 1.04, 1.07 y 1.23 kg para MP, de 2.64, 2.94, 2.96 y 3.29 kg para ESM y 3.68, 4.16, 4.20 y 4.61 kg para sólidos totales. Los valores más elevados de los porcentajes de MG, MP, LACT y ESM se observaron también en T4, indicando un efecto positivo de la concentración de almidón y siendo significativamente diferentes de los del resto de los grupos para MP, LCT y ESM. El tratamiento de pastoreo T1 mostró los valores más bajos

de MG y LACT, significativamente inferiores a los del resto de los grupos, mientras que los valores de composición fisicoquímica de la leche de los grupos T2 y T3 solamente fueron diferentes para el valor de ESM, superior en T2. Los valores medios de los grupos fueron: para MG 3.28, 3.50, 3.50 y 3.56%, para MP 3.07, 3.02, 3.03 y 3.27%, para LCT 4.63, 43.74, 4.72 y 4.80% y para ESM 8.43, 8.47, 8.38 y 8.73%, grupos T1 a T4, respectivamente, destacándose los bajos valores de grasa, sobre todo en el grupo T1, donde las vacas tenían acceso continuado al pasto.

El valor de urea en leche más elevado fue para este tratamiento (317 mg/L), siendo significativamente superior al resto, lo que se tribuye al elevado contenido en N degradable del pasto como consecuencia de la fertilización nitrogenada entre sucesivos pastoreos.

El punto crioscópico de la leche más bajo correspondió al tratamiento con mayor nivel de concentrado T4 (-0.527 °C) no siendo significativamente diferente este valor para los restantes grupos (-0.522°C para los dos grupos de pastoreo y -0.523 °C para T3).

Tabla 5.13.-Producción y composición fisicoquímica de la leche

	Tratamientos				s.e.m.	d.m.s.	Significación (P)		
	T1	T2	T3	T4			T	Per	T x Per
n	72	72	72	72					
Producción de leche (PL, L/día)									
PL no corregida	31.4	34.8	35.4	37.8	0.342	0.958	***	***	NS
PL _(3.5% MG)	30.4	34.8	35.4	38.1	0.407	1.139	***	***	**
PL _(3.5 %MG y 3.2% MP)	30.6	34.7	35.3	38.5	0.379	1.062	***	***	**
Producción de sólidos (kg/día)									
Materia grasa	1.04	1.22	1.24	1.34	0.019	0.053	***	***	***
Materia proteica	0.96	1.04	1.07	1.23	0.012	0.033	***	***	*
Extracto seco magro	2.64	2.94	2.96	3.29	0.031	0.086	***	***	NS
Sólidos totales	3.68	4.16	4.20	4.63	0.043	0.121	***	***	**
Composición fisicoquímica									
Materia grasa (%)	3.28	3.50	3.50	3.56	0.045	0.125	***	NS	*
Materia proteica (%)	3.07	3.02	3.03	3.27	0.019	0.053	***	NS	NS
Lactosa (%)	4.63	4.74	4.72	4.80	0.014	0.039	***	NS	NS
Extracto seco magro (%)	8.43	8.47	8.38	8.73	0.026	0.072	***	NS	NS
Urea (mg/L)	317	251	193	279	6.699	18.758	***	***	***
FPD (x -1 °C)	0.522	0.522	0.523	0.527	0.001	0.001	***	NS	NS

T1: pastoreo día y noche (10% pienso), T2: pastoreo diurno+TMR (20% pienso); T3: TMR (37% pienso); T4: TMR (52% pienso); s.e.m.: error estándar de la media; d.m.s: diferencia mínima significativa entre dos medias de la misma fila ($\alpha=0.05$); P: significación del test F en el ANOVA. NS: $P>0.05$; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$; T: tratamiento; Per: período; n: número de observaciones; FPD: punto crioscópico

Como se indica en la Tabla 5.14, la ingestión total de MS fue de 22.4, 24.0, 24.2 y 25.1 kg MS/vaca y día para los tratamientos T1 a T4 respectivamente. El valor de T1 fue significativamente inferior al resto, el de T4 significativamente superior al de los demás

grupos y los de T2 y T3 no se diferenciaron entre sí. El contenido medio de almidón en la MS de la dieta diaria de las vacas, considerando despreciable el valor del pasto y del ensilaje de hierba, se estimó en 3.1, 12.6, 20.4 y 26.1% MS para los tratamientos T1, T2, T3 y T4, respectivamente.

El consumo medio de concentrado por vaca fue de 2.4, 5.2, 9.4 y 13.6 kg/día y el consumo por litro de leche fue 81.5, 152.5, 266.7 y 355.1 g/L. La estimación del consumo de pasto en los tratamientos T1 y T2 fue, respectivamente, de 20.0 y 14.1 kg MS/día, representando el 89.2 y el 58.7% de la ingesta total. La eficiencia de transformación de la MS de la dieta en leche se incrementó con el nivel de concentrado en la dieta, con valores de 1.24, 1.33, 1.41 y 1.49 L FPCM/ kg concentrado, siendo significativamente diferentes las medias de todos los grupos.

Las vacas del tratamiento de pastoreo T1 perdieron condición corporal (CC) a lo largo del ensayo, pasando de valores de 2.75 CC a comienzo del ensayo a 2.45 al finalizar el mismo, con lo que parte de la producción de leche alcanzada se obtuvo a partir de la movilización de las reservas corporales de las vacas. Los animales del grupo de pastoreo T2, suplementado con TMR por la noche en establo, mantuvieron el valor de CC inicial (2.54) a lo largo del ensayo. Las vacas de los dos tratamientos de TMR mejoraron la condición corporal, en particular las del grupo T4, que pasaron de 2.71 a 3.01, seguidas de las del T3 que, teniendo una CC media de 2.67 al comienzo del experimento, llegaron con un valor de 2.82 al final del mismo.

Tabla 5.14.- Ingestión de materia seca, eficiencia, peso vivo y condición corporal de las vacas

	Tratamientos				<i>s.e.m.</i>	<i>d.m.s.</i>	<i>Significación (P)</i>		
	T1	T2	T3	T4			<i>T</i>	<i>Per</i>	<i>T x Per</i>
<i>n</i>	72	72	72	72					
Ingestión y eficiencia									
IMS (kg MS/vaca y día)	-	9.9	23.2	23.6	-	-	-	-	-
IMST (kg MS/vaca y día)	22.4	24.0	24.2	25.1	0.140	0.392	***	***	**
EFI (L leche/kg MS)	1.24	1.33	1.41	1.49	0.013	0.036	***	***	NS
Concentrado (g/kg FPCM)	65.3	152.5	266.7	355.1	8.398	23.516	***	***	NS
Peso vivo y condición corporal									
Peso vivo (kg)	596.3	589.3	656.6	637.9	1.626	4.554	*	NS	NS
Condición corporal (1-5)	2.45	2.56	2.82	3.01	0.031	0.088	***	NS	NS

T1: pastoreo día y noche (10% pienso), T2: pastoreo diurno+TMR (20% pienso); T3: TMR (37% pienso); T4: TMR (52% pienso); *s.e.m.*: error estándar de la media; *d.m.s.*: diferencia mínima significativa entre dos medias de la misma fila ($\alpha=0.05$); *P*: significación del test F en el ANOVA. NS: $P>0.05$; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$; T: tratamiento; Per: período; n: número de observaciones; IMS: Ingestión de materia seca en el comedero; IMST: Ingestión de materia seca total

La producción de leche y la de sólidos de la leche se redujo significativamente a lo largo del ensayo (Tabla 5.15), con valores medios (en kg/vaca y día) entre P1 y P4 de 37.8 a 31.8 kg para FPCM, de 1.33 a 1.09 kg para MG, de 1.14 a 0.99 kg para MP, de 3.20 a 2.72 kg para ESM y de 4.53 a 3.81 kg para sólidos totales. Los tratamientos de pastoreo, comparados con los de estabulación permanente, tuvieron proporcionalmente una mayor reducción de producción, disminuyendo el rendimiento diario por vaca en -0.80, -1.02, -0.51 y -0.40 kg FPCM/semana en los tratamientos T1 a T4, respectivamente. Cuando la producción se expresa en kg de sólidos de la leche, el comportamiento fue semejante, siendo la reducción porcentual de la producción diaria de MG y de sólidos totales por vaca en el conjunto del experimento, respecto del valor del primer período, del 22.4 y 20.0% en T1, del 27.2 y 22.7% en T2, del 13.5 y 12.4% en T3 y del 9.2 y 9.0% en T4, lo que indica una mayor persistencia de la producción en los tratamientos con mayor nivel de almidón en la dieta.

Tabla 5.15.- Valores medios por período: Producción y composición fisicoquímica de la leche e ingestión de materia seca

	Período 1		Período 2		Período 3		Período 4	
	Media	std	Media	std	Media	std	Media	std
n	72		72		72		72	
Producción de leche (PL, L/día)								
PL no corregida	37.7	6.77	35.8	6.20	33.6	6.28	32.1	5.96
PL _(3.5% MG)	37.9	7.60	36.0	6.76	33.2	6.66	31.6	6.40
PL _(3.5 %MG y 3.2% MP)	37.8	7.12	36.1	6.45	33.5	6.44	31.8	6.19
Producción de sólidos (kg/día)								
Materia grasa	1.33	0.31	1.26	0.27	1.15	0.26	1.09	0.26
Materia proteica	1.14	0.18	1.11	0.18	1.05	0.19	0.99	0.19
Extracto seco magro	3.20	0.55	3.05	0.51	2.86	0.52	2.72	0.50
Sólidos totales	4.53	0.82	4.32	0.75	4.01	0.75	3.81	0.72
Composición fisicoquímica								
Materia grasa (%)	3.52	0.43	3.52	0.43	3.41	0.40	3.39	0.47
Materia proteica (%)	3.05	0.25	3.12	0.21	3.14	0.21	3.10	0.25
Lactosa (%)	4.74	0.14	4.73	0.14	4.71	0.15	4.71	0.13
Extracto seco magro (%)	8.50	0.31	8.53	0.28	8.52	0.31	8.46	0.32
Urea (mg/L)	206	64	240	60	274	84	319	88
FPD (x -1 °C)	0.525	0.01	0.523	0.01	0.524	0.01	0.523	0.00

Período 1: 10 -30 abril; Período 2: 1 -21 mayo; Período 3: 22 mayo-11 junio; P4: 12 junio-2 julio
std.: desviación estándar de la media; FPD: punto crioscópico

La composición fisicoquímica de la leche varió de forma menos marcada a lo largo del experimento, siendo solamente significativo el efecto del período para el contenido en urea de la leche, que se incrementó desde 206 mg/L en P1 a 319 mg/L en P4. Este aumento se observó para los tratamientos de pastoreo, que pasaron de 225 y 200 mg/L en el primer período al 402 y 296 mg/L en el último, mientras que los de T3 y T4 se mantenían en

valores relativamente estables. Esta diferencia de comportamiento se atribuye, fundamentalmente, al exceso de N degradable del pasto con relación a la energía disponible, en particular en el tratamiento T1, donde los bajos valores de grasa y proteína serían consecuencia de este hecho.

5.3.7. Perfil de ácidos grasos de la leche

Como se puede observar en la Tabla 5.16, donde se exponen los valores de los principales grupos de AG e índices de calidad de los lípidos de la leche, el tipo de dieta ejerció una fuerte influencia sobre su composición, marcando claras diferencias entre las distintas dietas.

Los tratamientos de pastoreo T1 y T2, comparados con los tratamientos T3 y T4, respectivamente, mostraron los valores más bajos (en %AGt) de SFA (62.9 y 66.3 vs. 71.9 y 71.8%), de palmítico (24.3 y 27.1 vs. 32.0 y 34.0 %), de LA (1.29 y 1.67 vs. 2.07 y 2.41%), de omega-6 total (1.60 y 1.95 vs. 2.35 y 2.69 %), de la ratio omega-6/omega-3 (1.30 y 2.03 vs. 3.12 y 4.52) y de los índices aterogénico (2.1 y 2.4 vs. 3.2 y 3.3) y trombogénico (2.2 y 2.6 vs. 3.4 y 3.5). A su vez, T1 y T2 mostraron, comparados con T3 y T4, los valores (en %AGt) más elevados de PUFA (5.05 y 4.38 vs. 3.74 y 4.11%), y MUFA (30.8 y 28.4 vs. 23.5 y 23.3%), de AG de cadena ramificada (BCFA: 1.21 y 1.01 vs. 0.80 y 0.79%), de AG de cadena larga (LCFA: 45.3 y 40.6 vs. 35.0 y 32.1%), del TVA (5.21 y 3.33 vs. 1.05 y 1.24%), de ALA (1.00 y 0.74 vs. 0.49 y 0.27 %), del ácido linoleico conjugado (CLA, isómeros *CLAc9t11*: 2.08 y 1.33 vs. 0.49 y 0.70% y CLA total: 2.21 y 1.44 vs. 0.63 y 0.82%), de omega-3 total (1.24 y 0.99 vs. 0.76 y 0.60%), del ratio entre los isómeros trans-10 y trans-11 del C18:1 (*t10/t11* C18:1, 20.6 y 8.56 vs. 3.33 y 2.33) y del índice hipo/hiper colesterolémico (0.70 y 0.60 vs. 0.48 y 0.42). Entre los dos grupos de pastoreo, los valores de T1 fueron significativamente diferentes de los de T2. A su vez, los valores de T2 fueron significativamente diferentes a los de los dos grupos de vacas estabuladas alimentadas con TMR y niveles más altos de concentrado, mostrando cómo la presencia de pastos en la dieta define claramente los niveles de calidad del perfil graso. Se puede afirmar, a la vista de los resultados, que la presencia en la leche de compuestos bioactivos con efectos positivos en la salud humana es significativamente más alto para T1 comparado con T2 y el de éste, comparado con T3 y T4. La presencia de hierba ensilada en T3 se evidenció, comparada con T4, por un ratio *t10/t11* C18:1 significativamente superior, mostrando T3 un contenido significativamente más elevado de ALA, omega-3 y

del índice hipo-hipercolesterolémico, mientras que los valores de PUFA, LA, omega-6, CLAc9t11 y CLA total fueron más altas para T4, comparado con T3.

Tabla 5.16.- Efecto del tratamiento sobre los principales grupos de ácidos grasos de la leche, índices de calidad de los lípidos y recuperación aparente de alfa-linolénico

	Tratamiento				s.e.m.	d.m.s.	Significación (P)		
	T1	T2	T3	T4			T	Per	T x Per
n									
Ácidos grasos (% AGt)									
SFA	62.9	66.3	71.9	71.8	0.387	1.083	***	NS	*
BCFA	1.21	1.01	0.80	0.79	0.014	0.039	***	NS	NS
MUFA	30.8	28.4	23.5	23.3	0.333	0.932	***	*	NS
PUFA	5.05	4.38	3.74	4.11	0.084	0.234	***	*	NS
SCFA	8.88	9.26	9.40	8.57	0.140	0.392	***	NS	NS
MCFA	19.9	21.3	22.1	23.3	0.256	0.717	***	NS	NS
FA16	25.9	28.8	33.5	36.0	0.338	0.947	***	NS	NS
LCFA	45.3	40.6	35.0	32.1	0.412	1.153	***	NS	NS
TVA	5.21	3.33	1.05	1.24	0.105	0.293	***	*	NS
LA	1.29	1.67	2.07	2.41	0.033	0.092	***	NS	NS
ALA	1.00	0.74	0.49	0.27	0.016	0.045	***	*	NS
CLAc9t11	2.08	1.33	0.49	0.70	0.055	0.155	***	*	NS
CLA total isómeros	2.21	1.44	0.63	0.82	0.056	0.157	***	*	NS
Omega6	1.60	1.95	2.35	2.69	0.037	0.103	***	NS	NS
Omega3	1.24	0.99	0.76	0.60	0.017	0.046	***	*	*
Ratios de AG									
Omega6/Omega3	1.30	2.03	3.12	4.52	0.043	0.120	***	NS	***
t11/ t10 (C18:1)	20.68	8.56	3.33	2.33	0.344	0.964	***	*	***
Índices de calidad de los lípidos									
h _H	0.70	0.60	0.48	0.42	0.012	0.033	***	NS	NS
IA	2.11	2.48	3.20	3.29	0.049	0.137	***	**	NS
IT	2.25	2.63	3.49	3.58	0.050	0.139	***	NS	NS
Balance de alfa-linolénico (ALA)									
Ingestión (g/vaca e día)	232.8	153.4	30.0	19.8	1.108	3.104	***	***	***
Output (g/vaca e día)	10.2	9.0	5.9	3.5	0.266	0.745	***	***	***
Transferencia (%)	4.3	5.7	19.4	17.5	0.413	1.156	***	***	NS

T1: pastoreo día y noche (10% pienso), T2: pastoreo diurno+TMR (20% pienso); T3: TMR (37% pienso); T4: TMR (52% pienso); T: tratamiento; P: período; s.e.m.: error estándar de la media; d.m.s: diferencia mínima significativa entre dos medias de la misma fila ($\alpha=0.05$); P: significación del test F en el ANOVA. NS: $P>0.05$; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$; T: tratamiento; Per: período; n: número de observaciones; SFA: AG saturados; BCFA: AG de cadena ramificada; MUFA: AG monoinsaturados; PUFA: AG poliinsaturados; LA: ácido linoleico; ALA: AG alfa-linolénico; CLA: ácido linoleico conjugado; Omega6: Σ AG de la serie omega-6; Omega3: Σ AG de la serie omega-3; h-H: ratio hipo-hipercolesterolémico; IA: índice aterogénico; IT: índice trombogénico

En resumen, todos estos valores indican un excelente perfil graso para la leche de vacas que pastorean, desde el punto de vista de la presencia de AG bioactivos como ALA, TVA y CLA y de los índices de calidad de los lípidos, con un valor próximo al ideal de 1.0 para omega-6/omega-3, bajos valores para los índices aterogénico y trombogénico y el valor

más alto para el que mide la relación entre los AG con efecto reductor/potenciador del colesterol en humanos. La calidad de la grasa, así definida, esta positivamente relacionada con el porcentaje de pastos en la dieta, siendo por tanto más alta en la leche de vacas con acceso continuado al pasto comparada con la de las vacas de acceso diurno. El período del ensayo tuvo mucha menor influencia sobre el perfil graso de la leche (Tabla 5.17).

Tabla 5.17.- Valores medios por período: Principales grupos de ácidos grasos de la leche, índices de calidad de los lípidos y recuperación aparente de α -linolénico

	Período 1		Período 2		Período 3		Período 4	
	Media	std	Media	std	Media	std	Media	std
n	72		72		72		72	
Ácidos grasos (% AGt)								
SFA	68.84	5.31	67.83	4.84	68.69	5.08	67.48	5.16
BCFA	0.96	0.22	0.93	0.22	0.91	0.17	1.02	0.24
MUFA	25.58	4.51	27.04	4.12	26.46	4.40	26.95	4.25
PUFA	4.62	1.08	4.19	0.77	3.94	0.72	4.55	0.86
SCFA	9.28	1.34	8.65	1.05	9.54	1.43	8.63	1.34
MCFA	22.81	2.91	20.64	2.02	21.65	2.63	21.60	2.46
FA16	30.29	5.51	31.87	4.66	31.02	4.79	30.92	4.63
LCFA	37.62	6.35	38.84	5.98	37.79	6.18	38.84	6.42
TVA	2.97	1.97	2.61	1.83	2.34	1.76	2.98	2.20
LA	1.99	0.56	1.79	0.49	1.84	0.48	1.81	0.52
ALA	0.73	0.37	0.61	0.30	0.59	0.28	0.58	0.28
CLAc9t11	1.16	0.75	1.12	0.74	1.00	0.74	1.34	0.95
CLA total isómeros	1.28	0.74	1.24	0.74	1.10	0.74	1.50	0.96
Omega6	2.33	0.58	2.09	0.54	2.03	0.47	2.13	0.51
Omega3	1.01	0.35	0.87	0.27	0.80	0.26	0.91	0.25
Ratios de AG								
Omega6/Omega3	2.7	1.3	2.7	1.3	2.9	1.4	2.6	1.2
t11/ t10 (C18:1)	9.8	7.9	9.2	8.5	6.6	6.5	9.6	9.1
Índices de calidad de los lípidos								
h_H	0.54	0.17	0.57	0.14	0.55	0.15	0.55	0.13
IA	2.91	0.73	2.64	0.60	2.80	0.65	2.73	0.62
IT	3.00	0.81	2.96	0.68	3.05	0.70	2.92	0.64
Balance de alfa-linolénico (ALA)								
Transferencia (%)	14.3	9.9	11.2	6.7	10.9	7.5	10.3	6.8

Período 1: 10 -30 abril; Período 2: 1 -21 mayo; Período 3: 22 mayo-11 junio; P4: 12 junio-2 julio
 std.: desviación estándar de la media; n: número de observaciones; SFA: AG saturados; BCFA: AG de cadena ramificada; MUFA: AG monoinsaturados; PUFA: AG poliinsaturados; LA: ácido linoleico; ALA: AG alfa-linolénico; CLA: ácido linoleico conjugado; Omega6: Σ AG de la serie omega-6; Omega3: Σ AG de la serie omega-3; h-H: ratio hipo-hipercolesterolémico; IA: índice aterogénico; IT: índice trombogénico

Las diferencias entre grupos están, por lo general, acotadas a los cambios observados en los grupos de pastoreo durante el ensayo, aunque no se observa una tendencia definida para la mayor parte de los grupos de AG o índices de calidad de los lípidos, salvo para el contenido de ALA, que tiende a reducirse desde un valor medio de 0.73 en P1 a 0.58 en P4. Con esta salvedad apuntada, en los grupos de vacas estabulados permanentemente, los cambios estacionales del perfil graso son, en general, de pequeña magnitud, mientras que

en los grupos de pastoreo se observan valores más altos de TVA y CLA en P1 y P4 y más bajos en P2 y P3. Sin una explicación más concreta, se atribuye a las condiciones del pasto y/o ambientales este comportamiento. En todo caso, la no significación de la interacción entre tratamiento y período para la mayor parte de los parámetros que definen la calidad del perfil graso de la leche indica que las diferencias relativas entre los diferentes tratamientos, comentadas anteriormente, se mantuvieron a lo largo de toda la duración del ensayo.

La recuperación a aparente de ALA en la leche, o tasa de transferencia de ALA de la dieta a la leche fue inversamente proporcional a la concentración la dieta y por tanto a la ingestión diaria. Los valores medios de los diversos grupos fueron todos diferentes entre sí, siendo de 4.3, 5.7, 19.4 y 17.5% de la ingesta total para los tratamientos T1 a T4, respectivamente. A lo largo del experimento, la tasa de transferencia se redujo significativamente desde el 14.3% en P1 al 10.3% en P4, ya que a pesar que la concentración media en la dieta disminuyó de 65 a 56 g de ALA/día, la reducción proporcional fue mayor para el valor del output en leche, que pasó de 9.3 a 5.8 g de ALA/día en P1 y P4, respectivamente.

En la Tabla 5.18 se muestran los valores de los 48 AG individuales identificados y cuantificados en las cromatografías, pudiendo observarse la alta significación del tipo de dieta sobre el perfil graso de la leche, como se comentó anteriormente.

Tabla 5.18.- Efecto del tratamiento sobre la composición de ácidos grasos de la leche

n	Tratamientos				s.e.m.	d.m.s.	P
	T1	T2	T3	T4			
	72	72	72	72			
AG individuales (% AGt)							
C4:0	5.451	5.497	5.527	4.927	0.091	0.255	***
C6:0	2.221	2.401	2.468	2.318	0.041	0.116	***
C8:0	1.208	1.365	1.409	1.330	0.024	0.067	***
C10:0	2.697	3.121	3.202	3.352	0.052	0.147	***
C10:1c9	0.076	0.078	0.088	0.087	0.002	0.005	***
C11:0	0.042	0.056	0.064	0.130	0.004	0.011	***
C12:0	3.030	3.482	3.644	3.977	0.060	0.167	***
C13:0	0.094	0.100	0.113	0.190	0.005	0.014	***
C14:0iso	0.118	0.090	0.084	0.060	0.002	0.006	***
C14:0	10.60	11.39	12.03	12.10	0.129	0.360	***
C15:0iso	0.334	0.276	0.223	0.200	0.004	0.012	***
C14:1c9	0.891	0.954	1.024	1.109	0.029	0.080	***
C15:0aio	0.758	0.646	0.497	0.528	0.011	0.032	***
C15:0	1.272	1.130	1.159	1.598	0.031	0.086	***
C15:1c10	0.002	0.002	0.001	0.002	0.000	0.001	NS
C16:0	24.35	27.17	32.087	34.02	0.340	0.952	***
C16:1c9n7	1.539	1.669	1.400	1.935	0.031	0.085	***
C17:0	0.643	0.580	0.554	0.597	0.009	0.026	***
C18:0	10.96	9.66	9.36	7.08	0.156	0.437	***
C18:1t6:t9	0.461	0.530	0.395	0.508	0.011	0.030	***
C18:1t10	0.258	0.444	0.322	0.635	0.026	0.073	***
C18:1t11	5.212	3.332	1.055	1.244	0.105	0.294	***
C18:1t12	0.296	0.368	0.284	0.322	0.008	0.022	***
C18:1c9n9	21.60	20.41	18.371	16.66	0.279	0.782	***
C18:1c11n7	0.378	0.427	0.383	0.539	0.011	0.032	***
C18:1c12	0.062	0.111	0.177	0.190	0.004	0.012	***
C18:2n6	0.026	0.023	0.020	0.018	0.001	0.003	***
C18:2cn6	1.294	1.669	2.067	2.407	0.033	0.092	***
C18:3n6	0.025	0.029	0.030	0.038	0.001	0.003	***
C18:3n3	1.004	0.744	0.493	0.270	0.016	0.045	***
C20:0	0.135	0.133	0.159	0.118	0.003	0.008	***
CLAc9t11	2.085	1.328	0.486	0.705	0.055	0.155	***
CLAx	0.002	0.001	0.000	0.003	0.000	0.001	***
CLAx1	0.121	0.115	0.145	0.114	0.003	0.008	***
C20:1c11n9	0.040	0.022	0.017	0.012	0.002	0.006	***
C21:0	0.039	0.033	0.033	0.028	0.001	0.003	***
C20:2n6	0.014	0.015	0.021	0.020	0.001	0.002	***
C20:3n6	0.108	0.113	0.137	0.152	0.009	0.026	**
C20:3n3	0.109	0.124	0.159	0.237	0.004	0.010	***
C22:0	0.050	0.038	0.037	0.021	0.001	0.003	***
C20:4n6	0.007	0.007	0.008	0.008	0.001	0.002	NS
C22:2n6	0.130	0.093	0.068	0.044	0.003	0.007	***
C23:0	0.040	0.029	0.024	0.017	0.001	0.003	***
C20:5n3	0.005	0.004	0.004	0.004	0.000	0.001	NS
C24:0	0.064	0.053	0.053	0.036	0.002	0.005	***
C24:1n9	0.006	0.004	0.004	0.003	0.000	0.001	***
C22:5n3	0.117	0.103	0.089	0.080	0.002	0.006	***
C22:6n3	0.009	0.010	0.011	0.010	0.001	0.003	NS

T1: pastoreo día y noche (10% pienso), T2: pastoreo diurno+TMR (20% pienso); T3: TMR (37% pienso); T4: TMR (52% pienso); P: significación del test F en el ANOVA. NS: $P>0.05$; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$; n: número de observaciones; CLA: ácido linoleico conjugado; CLAx y CLAx1: isómeros de CLA desconocidos

5.3.8. Concentración de antioxidantes liposolubles en la leche

Al igual que sucedió con el perfil de AG, el tipo de dieta modificó significativamente la concentración de vitamina E y carotenoides de la leche (Tabla 5.19). El contenido en el isómero mayoritario de la vitamina E (α -tocoferol) siguió una tendencia descendiente conforme aumentaba el contenido en almidón de la dieta, desde T1 a T4, siendo significativamente diferente entre grupos. El comportamiento del minoritario γ -tocoferol, fue exactamente a la inversa, con contenidos significativamente superiores entre grupos y descendiendo de T4 a T1. Los valores medios (en $\mu\text{g/L}$ de leche) de α -tocoferol fueron de 1053, 939, 784 y 658, siendo los de γ -tocoferol de 15.7, 25.3, 40.6 y 51.2, respectivamente, para los tratamientos T1 a T4, todos ellos significativamente diferentes entre sí. La presencia en la leche de estos micronutrientes responde a su diferente concentración en los ingredientes de la dieta, con valores en los pastos más elevados en α -tocoferol y más bajos en γ -tocoferol, mientras que en el ensilaje de maíz y el concentrado los contenidos en α -tocoferol fueron comparativamente menores los de γ -tocoferol más elevados, como se comentó en el apartado respectivo.

El contenido en carotenoides siguió una tendencia semejante a la observada para el α -tocoferol, con valores significativamente más elevados en los tratamientos de pastoreo y tendencia descendiente conforme disminuía la presencia de pastos frescos en la ración y aumentaba el contenido en almidón. El carotenoide con mayor concentración en la leche fue el *all-trans*- β -Caroteno, seguido de la Luteína, del *cis*-13- β -Caroteno, de la β -Criptoxantina, la Zeaxantina y finalmente el *cis*-9- β -Caroteno. Los valores respectivos para T1 y T2, comparados con T3 y T4 fueron (expresados en $\mu\text{g/L}$ de leche) respectivamente, *all-trans*- β -Caroteno: 201 y 164 vs. 112 y 52.8; Luteína: 22.6 y 16.4 vs. 5.2 y 1.9; *cis*-13- β -Caroteno: 7.4 y 5.2 vs. 3.3 y 0.8; β -Criptoxantina: 2.4 y 2.2 vs. 1.4 y 0.9; Zeaxantina: 1.6 y 1.1 vs. 0.38 y 0.3 y *cis*-9- β -Caroteno: 1.4 y 0.9 vs. 0.6 y 0.2. Los valores de T1 fueron todos significativamente superiores a los de T2, salvo para la minoritaria β -Criptoxantina, mientras que los de T2 fueron todos significativamente superiores a los de T3 salvo para el *cis*-9- β -Caroteno y, finalmente, todos los de T3 fueron significativamente superiores a los de T4. Se establece así un claro gradiente de concentración de antioxidantes carotenoides en la leche que diferencia entre sí los distintos tipos de dieta, con un perfil más favorable relacionado con la presencia de pastos frescos o de ensilaje de hierba y menos favorable conforme aumenta el ensilaje de maíz y la concentración de almidón en la dieta.

A partir de los valores de concentración de α -tocoferol y de β -Caroteno (forma all-*t*- β -Caroteno) en los pastos, ensilajes, heno y pienso utilizados en el experimento, así como en la leche, fue posible realizar el cálculo de recuperación aparente de estos micronutrientes de la dieta en la leche. Se observó una tendencia semejante a la de la recuperación de ALA, comentada anteriormente, en el sentido de que la tasa de transferencia de la dieta a la leche de un micronutriente varía de forma inversamente proporcional a la concentración del mismo en la dieta. En todo caso, las recuperaciones observada son muy bajas, con valores medios para el α -tocoferol de 1.77, 2.08, 3.21 y 2.94% y para el β -caroteno de 0.21, 0.30, 0.95 y 1.45% para T1 a T4, respectivamente.

Tabla 5.19.- Efecto del tratamiento sobre la concentración de vitaminas A, E y carotenoides de la leche y sobre la recuperación aparente de α -tocoferol y de β -caroteno

	Tratamiento				s.e.m.	d.m.s.	Significación (P)		
	T1	T2	T3	T4			T	P	T x P
n	72	72	72	72					
Vitaminas ($\mu\text{g/L}$ de leche)									
Retinol	384	417	374	385	10.2	28.6	NS	***	NS
α -Tocoferol	1053	939	784	658	29.7	83.3	***	***	NS
γ -Tocoferol	15.7	25.3	40.6	51.2	1.311	3.670	***	NS	NS
Carotenoides ($\mu\text{g/L}$ de leche)									
Luteína	22.6	16.4	5.2	1.9	0.260	0.727	***	***	*
Zeaxantina	1.6	1.1	0.8	0.3	0.076	0.212	***	***	**
β -Criptoxantina	2.4	2.2	1.4	0.9	0.090	0.251	***	**	NS
all- <i>t</i> - β caroteno	201	164	112	52.8	7.42	20.8	***	*	***
c9- β caroteno	1.4	0.9	0.6	0.2	0.109	0.304	***	***	***
c13- β caroteno	7.4	5.2	3.3	0.8	0.362	1.013	***	***	***
Balance de α -tocoferol									
Ingestión (mg/vaca e día)	1855	1551	867	841	9.56	26.7	***	***	***
Output (mg/vaca e día)	33.2	32.5	27.8	24.9	1.04	2.93	***	***	NS
Transferencia (%)	1.8	2.1	3.2	2.9	0.099	0.277	***	***	NS
Balance de β -caroteno									
Ingestión (mg/vaca e día)	2930	1932	421	140	13.9	39.1	***	***	***
Output (mg/vaca e día)	6.2	5.8	4.0	2.0	0.265	0.741	***	*	*
Transferencia (%)	0.2	0.3	0.9	1.4	0.057	0.161	***	***	***

T1: pastoreo día y noche (10% pienso), T2: pastoreo diurno+TMR (20% pienso); T3: TMR (37% pienso); T4: TMR (52% pienso); T: tratamiento; P: período; s.e.m.: error estándar de la media; d.m.s: diferencia mínima significativa entre dos medias de la misma fila ($\alpha=0.05$); P: significación del test F en el ANOVA. NS: $P>0.05$; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$; n: número de observaciones

En la Tabla 5.20 se indican los valores medios de concentración en los ingredientes de la dieta de α -tocoferol y de β -caroteno y el aporte de cada ingrediente a la MS total, para cada uno de los tratamientos. Como puede observarse, la concentración estimada de α -tocoferol y de β -caroteno en la dieta de los distintos tratamientos es, expresado en mg/kg MS, de

82.6 y 130.5 mg en T1, de 64.2 y 79.9 mg en T2, de 37.4 y 18.1 mg en T3 y de 35.6 y 5.9 mg en T4, respectivamente, para α -tocoferol y β -caroteno.

Tabla 5.20.- Aporte diario de α -tocoferol y de β -Caroteno en la dieta de los distintos grupos (valores por kg de materia seca)

	Pasto	Ensilaje hierba	Ensilaje maíz	Heno	Concentrado	Total
Concentración (mg/kg MS)						
α -Tocoferol	88	42.5	44	5.9	34.4	-
β -Caroteno	145	49.6	14.8	0.69	0.13	-
Tratamiento T1						
α -Tocoferol, mg	79.2	0	0	0	3.44	82.6
β -Caroteno, mg	130.5	0	0	0	0.013	130.5
Tratamiento T2						
α -Tocoferol, mg	46.2	0.0	11.0	0.1	6.9	64.2
β -Caroteno, mg	76.1	0.0	3.7	0.0	0.0	79.9
Tratamiento T3						
α -Tocoferol, mg	0.0	11.9	12.3	0.4	12.7	37.4
β -Caroteno, mg	0.0	13.9	4.1	0.0	0.0	18.1
Tratamiento T4						
α -Tocoferol, mg	0.0	0.0	17.2	0.5	17.9	35.6
β -Caroteno, mg	0.0	0.0	5.8	0.1	0.1	5.9

T1: pastoreo día y noche (10% pienso), T2: pastoreo diurno+TMR (20% pienso); T3: TMR (37% pienso); T4: TMR (52% pienso)

El período de ensayo modificó también la concentración de los antioxidantes liposolubles de la leche, mostrándose en la Tabla 5.21 los valores medios por período de ensayo. El contenido en retinol aumentó en los dos períodos finales del ensayo, de forma aproximadamente semejante en los distintos grupos, por lo que se atribuye esta variación a un efecto del avance de la lactación, sin descartar que otro u otros factores no conocidos pudieran también haber influido en este cambio. El contenido en α -tocoferol aumentó a lo largo del ensayo en todos los tratamientos, con valores medios de 732 $\mu\text{g/L}$ de leche en P1 a 982 $\mu\text{g/L}$ en P2, pero de forma más intensa en los tratamientos de pastoreo (T1: de 918 a 1169 $\mu\text{g/L}$; T2: de 813 a 1126 $\mu\text{g/L}$), como respuesta al incremento de la concentración observada en el pasto conforme avanzaba la primavera, de forma particular en los tratamientos de pastoreo. Los cambios en la concentración de carotenoides son descendentes, de media, para las xantofilas y se mantienen estables o aumentan ligeramente para los carotenos. Estos cambios se deben fundamentalmente a las variaciones existentes en los tratamientos de pastoreo, donde entre P1 y P4 el valor de la Luteína desciende desde 27.9 a 17.0 $\mu\text{g/L}$ en T1 y de 20.5 a 13.2 en T2, permaneciendo relativamente constante en T3 y T4 y en el mismo período el β -caroteno aumenta de 151 a

197 µg/L en T1 y de 158 a 180 µg/L en T2, mientras que en T3 y T4 se mantiene en el entorno de 118-121 µg/L y de 80-40 µg/L, respectivamente. Los contenidos en xantofilas se mantienen o aumentan ligeramente en el pasto durante la primavera, mientras que los de carotenos lo hacen de forma más marcada, lo cual explicaría el diferente comportamiento en cuanto a la concentración de estos micronutrientes en la leche.

Tabla 5.21.- Valores medios por período: Concentración de vitaminas A, E y carotenoides

	Período 1		Período 2		Período 3		Período 4	
	Media	std	Media	std	Media	std	Media	std
n	72		72		72		72	
Vitaminas (µg/L de leche)								
Retinol	370.3	104.8	295.2	78.4	464.4	67.7	431.8	99.6
α-Tocoferol	732.8	263.1	727.3	297.3	992.5	310.7	982.5	319.1
γ-Tocoferol	29.1	14.1	29.0	13.9	42.1	24.1	32.6	17.7
Carotenoides (µg/L de leche)								
Luteína	14.47	14.29	12.48	11.16	10.13	8.57	9.03	7.33
Zeaxantina	1.40	1.31	1.14	0.85	0.64	0.41	0.65	0.39
β-Criptoxantina	1.94	1.00	1.72	1.03	1.73	1.11	1.49	0.81
all- <i>t</i> -βcaroteno	129.3	65.2	116.2	84.0	151.2	109.9	134.5	83.0
<i>c</i> 9-βcaroteno	0.38	0.60	0.37	0.83	1.39	1.73	0.96	0.91
<i>c</i> 13-βcaroteno	3.48	3.05	3.50	4.07	5.56	5.01	4.14	3.91

Período 1: 10 -30 abril; Período 2: 1 -21 mayo; Período 3: 22 mayo-11 junio; P4: 12 junio-2 julio

std: desviación estándar de la media

La interacción significativa entre el tratamiento y el período para los compuestos carotenoides se explica, como queda dicho, por la variación de la concentración en la leche de los tratamientos T1 y T2 causada por el distinto contenido del pasto en estos compuestos, mientras que para los otros dos grupos, la variación de su concentración en la dieta y en la leche es mucho menor. Las diferencias relativas entre los distintos tratamientos en cuanto a la concentración de los antioxidantes liposolubles en la leche se refiere, se mantuvieron pese a estas diferencias, a lo largo del ensayo, con lo cual se confirma la tendencia a un perfil antioxidante más favorable de la leche de vacas marcado por la presencia de pastos frescos y ensilados e la dieta y menos favorable cuando éstos se substituyen por ensilaje de maíz y altos niveles de concentrado.

5.4. DISCUSIÓN

5.4.1. Composición en alfa-tocoferol y beta-caroteno de pastos y forrajes

Los valores encontrados en la bibliografía para los contenidos en vitamina E y carotenoides de los forrajes son muy variables. Para pastos plurianuales, Prache *et al.* (2003) citan valores de 620-700 mg/kg MS en mayo-junio y de 430 mg/kg MS en agosto, más elevados que los encontrados en nuestro trabajo (media 345 mg/kg, rango 257-492). Para una pradera de gramíneas y trébol violeta, Chaveau-Duriot *et al.* (2005) indican valores de carotenoides totales para ensilaje directo, presecado al 25% MS, presecado al 30% MS, henolaje al 50% MS y 70% MS y heno recogido con buen tiempo de 352, 226, 108, 89, 116 y 72 mg/kg MS. Los valores del ensilaje de hierba utilizado en nuestro ensayo (114 mg/kg MS) es comparable al indicado para el ensilaje con el 30% MS, pero el del heno (6.5 mg/kg) es mucho más bajo que el indicado por los anteriores autores, corroborando la baja calidad de los henos de pradera en nuestras condiciones. Lindqvist *et al.* (2013) indican valores de 46-50 mg/kg MS de α -tocoferol y de 54-62 mg/kg MS de β -caroteno para pastos de gramíneas danesas en un sistema de 4 cortes/año, algo más bajos que los obtenidos en nuestro trabajo para el pasto consumido por las vacas (valores medios de 88.0 para α -tocoferol y de 144.9 mg/kg MS para β -caroteno). Mogensen *et al.* (2012) indican, para forrajes conservados de granjas ecológicas danesas, valores medios de α -tocoferol y de β -caroteno de, respectivamente, 30 y 21 mg/kg MS para ensilajes de raigrás y trébol blanco, de 13 y 8 mg/kg MS para ensilaje de maíz y de 28 y 9 mg/kg MS para ensilajes de cereal de invierno. Estos valores son también más bajos que los observados para el ensilaje de hierba en nuestro trabajo (42.5 y 49.6 mg/kg) y para el ensilaje de maíz (44.0 y 14.8 mg/kg MS), para α -tocoferol y β -caroteno, respectivamente.

5.4.2. Nivel de pastos y composición de ácidos grasos de la leche

Es bien conocido que la hierba en estado foliáceo es rica en AGt y que el ALA es el AG dominante en el perfil graso del pasto fresco. El sistema de pastoreo, la carga animal y la composición del pasto tienen, a este respecto, efectos menores sobre la composición de los distintos grupos de AG del pasto (Coppa *et al.*, 2011). Ferlay *et al.* (2013), por ejemplo, indica que en estas condiciones el valor medio de AGt sería de 1.5% MS y el C18:3n3

representaría del 50 al 75% de los AGt, lo cual coincide con los resultados de nuestro estudio. Esto explica que la leche de vacas en pastoreo sea más rica en C18:0, C18:1c9, C18:1t11, CLA *c9t11* y C18:3n3 comparada con la de vacas que reciben raciones completas a base de ensilajes (Chilliard *et al.*, 2007) y con un contenido en AG saturados más bajo.

Experimentalmente se ha observado que el aumento progresivo de los pastos en la ración de las vacas aumenta el contenido en AG bioactivos saludables. Couvreur *et al.* (2006), por ejemplo, encontraron que cuando en el total de MS de la dieta se pasaba del 30% al 100% de hierba fresca, se observaban aumentos lineales de ALA y de CLAc9t11, mientras se reducía de forma también linear la proporción en la grasa de los AG de cadena media (de 10 a 16 átomos de C). En nuestro caso, comparando los tratamientos T1 y T2, con el 90% y 53% de pasto fresco respectivamente, el T3 con de 28% de ensilaje de hierba y el T4 con solamente ensilaje de maíz y contenidos de almidón del 3%, 12%, 20% y 26%, respectivamente, se observa un incremento relativo de la proporción de ALA desde 1 en el tratamiento T4 a 1.8, 2.7 y 3.7 en T3, T2 y T1, siendo el incremento relativo de CLAc9t11 desde 1 en T4 y 0.7 en T3 a 1.9 y 2.9 en T2 y T1, respectivamente, mientras la reducción de los AG de cadena media va desde 1 en T4 a 0.93, 0.80 y 0.71 en T3, T2 y T1, respectivamente.

Dietas ricas en ensilaje de maíz, con altos contenidos en LA y oleico y pobres en ALA, producen leche con contenidos más bajos en ALA y CLA y más ricos en esteárico y oleico que las dietas con ensilaje de hierba (Dewhurst *et al.*, 2006). Por otra parte, Paccard *et al.* (2006) indican los valores típicos para leche de pastoreo, para ensilaje + pasto y para dietas de hasta 6 kg de concentrado en el pasto que se resumen en la Tabla 5.22. Los valores obtenidos en nuestro ensayo encajan con esta descripción, si bien la leche de los tratamientos de pastoreo mostró valores más bajos de SFA, de C16:0 y del ratio omega-6/omega-3, así como más altos de ALA y CLA que los correspondientes valores de la tabla, reflejando tanto la calidad del pasto como su proporción en la dieta.

Tabla 5.22.- Resumen de los valores típicos para leche procedente de diferentes dietas en el estudio de Paccard *et al.* (2006)

Alimentación	SFA	PUFA	C16:0	LA	ALA	CLA	omega6/ omega3
Pastoreo	65.1	4.3	23.1 a 26.9	2.6 a 4.5	0.7 a 1.5	1.3 a 1.7	2.5 a 2.7
Pastoreo+Ensilaje	69.7	3.7	30.9	2.8	0.55	0.79	4.0
Pastoreo+ Concentrado (6 kg)	65.2	2.2		1.22	0.98		
Ensilaje de maíz	75.8 a 75.1	2.6 a 2.8	30.1 a 33.3	2.3 a 2.5	0.1 a 0.3	0.5	7.5
Ensilaje de hierba	73.1	2.6	31.2	2.5	0.5		



5.4.3. Variación del contenido en ácidos grasos de la leche

Las raciones con alta proporción de concentrado pueden causar caídas del contenido graso de la leche. Chillard *et al.* (2007) describen los efectos del incremento de concentrados en la ración sobre el contenido en MG, indicando que con porcentajes de concentrado del 50-60% de la MS de la ración, el descenso de MG es pequeño, pero cuando sobrepasan el 60% la grasa disminuye fuertemente. En nuestro experimento, los niveles de concentrado eran del 10% en T1, el 20% en T2, el 37% en T3 y el 57% en T4 y si bien los contenidos en MG fueron bajos, no cabe atribuirlos únicamente al mayor nivel de concentrado, toda vez que el menor contenido en MG se observó en la leche del tratamiento T1, con mayor proporción de pasto en la dieta. En estas condiciones, cabría pensar en que una alta concentración de PUFA de cadena larga en la glándula mamaria pudiera afectar negativamente la formación *ex novo* de AG de cadena corta y media (de C4 a C17), cuyos valores en T1 son significativamente más bajos comparados con T3.

Ferlay *et al.* (2013) revisando el efecto sobre el perfil de AG, indican que cuando el concentrado aumenta del 3 al 35%, los contenidos en la leche de LA y de los AG de cadena menor de 16 carbonos, sintetizados *ex novo* en la glándula mamaria también se incrementan, mientras descienden las proporciones de oleico, de CLAc9t11 y de ALA. Coincidiendo con estas indicaciones, en nuestro experimento, comparando los valores medios de T1 y T3 se observa que el LA aumenta de 1.29 al 2.07% AGt, los AG de cadena corta y media de 8.88 a 9.40 y de 19.9 a 23.3% AGt, con descensos en la proporción de oleico desde 21.6 a 18.3% AGt, de CLAc9t11 desde 2.08 a 0.48% AGt y de ALA desde 1.00 a 0.49% AGt, debiendo ser tenido en cuenta que, en nuestro caso, el incremento de la proporción de concentrado coincide con el descenso de la proporción de pastos frescos y su substitución parcial por ensilajes de hierba y maíz. El ulterior aumento de concentrado por encima del 60% conllevaría, según Ferlay *et al.* (2013), incrementos en la concentración de C18:1t10 y probablemente el de CLAc9t11, disminuyendo el contenido de MG. En nuestro experimento, comparando los valores medios de T3 con T4 se observa efectivamente un incremento del isómero C18:1t10 (de 0.32 a 0.63% AGt) y de CLAc9t11 (de 0.48 a 0.70% AGt) pero no una disminución del nivel de grasa de la leche.

Por otra parte, Vlaeminck *et al.* (2006) indican la existencia de una correlación negativa entre el contenido de almidón y las concentraciones de AG de cadena impar y ramificada, que pudimos también comprobar en nuestro experimento, toda vez que las proporciones de C14:iso, C15:liso y C15:aiso, disminuyeron significativamente desde valores de 0.11, 0.33 y 0.75 en T1 a 0.06, 0.20 y 0.52 en T4. Como se comentó en otro apartado de esta tesis, estos AG son productos de origen microbiano, sintetizados por las bacterias celulolíticas del rumen, cuya población se ve deprimida por el bajo pH causado por cantidades elevadas de almidón en la dieta. Son por otra parte, como indican Bainbridge *et al.* (2016), una clase emergente de compuestos bioactivos de origen ruminal y por tanto, de origen único, cuyo papel positivo en la nutrición humana está siendo estudiado actualmente.

5.4.4. Recuperación de α -tocoferol y β -caroteno en leche

La concentración en la leche de vitaminas liposoluble A y E y β -caroteno están relacionadas a su concentración en la dieta consumida por las vacas. En condiciones experimentales Calderón *et al.* (2007) observaron una relación linear entre los aportes alimentarios de vitamina E y β -caroteno y su concentración plasmática, pero solamente para la vitamina E se mantiene esa relación linear para el contenido en leche. Ferlay *et al.* (2013) indican que los contenidos en leche de β -caroteno alcanzan una relación asintótica alrededor de los 5 $\mu\text{g/g}$ grasa, lo que sugiere una saturación de la transferencia del plasma a la leche. En el mismo sentido, Nozière *et al.* (2006) muestran la existencia de una relación linear entre la concentración de β -caroteno alimentario cuando la dieta aporta entre 0 y 60 mg/kg MS y su concentración en la leche entre 1.5 y 5.5 $\mu\text{g/g}$ de grasa. En nuestro estudio, la concentración en la dieta de α -tocoferol fue de 82.6, 64.2, 37.4 y 35.6 mg/kg MS y la concentración observada en la leche fue de 31.0, 26.4, 21.6 y 17.9 $\mu\text{g/g}$ de grasa y, por otra parte, la concentración de β -caroteno en la dieta fue de 130.5, 80.0, 18.1 y 5.9 mg/kg MS obteniéndose concentraciones en la leche de 5.9, 4.6, 3.1 y 1.4 $\mu\text{g/g}$ grasa, lo cual coincide con los resultados de los autores referidos anteriormente.

Es difícil encontrar en la bibliografía referencias para comparar los resultados de recuperación aparente de α -tocoferol y β -caroteno en leche. En todo caso, la tasa de transferencia de vitamina E y de carotenoides a la leche es muy débil, por lo general con valores próximos o inferiores al 1%, como indica Calderón *et al.* (2007) y Martin *et al.* (2009). En otro estudio Shingfield *et al.* (2005) reportaron un contenido en β -caroteno superior en la leche de vacas alimentadas con ensilado de hierba comparado con heno de las

mismas praderas, con valores respectivos de 190 y 140 $\mu\text{g/kg}$ de leche, pero con una eficiencia muy baja en ambos casos, del 0.07% de media. En otro experimento, Havemose *et al.* (2006) observaron una mayor tasa de transferencia de β -caroteno a la leche a partir de ensilado de raigrás y trébol que a partir de heno. En un trabajo donde se suplementaba con α -tocoferol la dieta de vacas lecheras de producción ecológica que consumían ensilajes de gramíneas y leguminosas pratenses de diferente composición, Höjer *et al.* (2012) reportaron valores de 300 y 400 $\mu\text{g/kg}$ de leche para β -caroteno y retinol, respectivamente, lo que incrementa notablemente los resultados de los anteriores autores, entre cuyos valores se encuentran nuestros resultados. En este estudio se indican valores de recuperación aparente de α -tocoferol en leche de entre el 6.1% para dietas con un aporte de 620 mg/día y el 1.5% para dietas con aportes de 2140 mg/día, así como del 2.2% de recuperación para β -caroteno cuando el aporte diario de la dieta era de 340 mg, de 1.1% cuando era de 440 mg y de 1.0 cuando se llegaba a 510 mg/día.

Mogensen *et al.* (2012) analizando la dieta y la composición de la leche de granjas ecológicas danesas, ofrece valores de recuperación de α -tocoferol en leche de entre 1.6 y 4.6 % para dietas con aporte diario de, respectivamente, 721 y 543 mg de α -tocoferol, mientras que indican tasas de recuperación de 0.6 a 1.41% del β -caroteno para dietas que aportan 670 y 276 mg/día, respectivamente.

Nuestros resultados permiten observar, para α -tocoferol, tasas de recuperación aparente en leche de 2.9 y 3.2% para dietas con 841 y 867 mg/día y de 2.1 y 1.8% para dietas con aporte diario de 1551 y 1815 mg/día, mientras que para β -caroteno la recuperación observada en leche fue de 1.4% para dietas con 140 mg/día, de 0.9% para dietas con 421 mg/día y de 0.3% y 0.2% para dietas de 1932 y 2930 mg/día, respectivamente, confirmando la relación inversa entre la concentración en la dieta y la tasa de recuperación aparente en leche. En el caso de considerar el aporte de vitamina A en el concentrado y la presencia de retinol en la leche, asumiendo la relación de 1 mg de retinol=2 mg de β -caroteno, la tasa de transferencia sería considerablemente más alta, resultando de 1.6%, 2.2%, 3.2% y 3.2% para las dietas de T1 a T4 que aportaban, respectivamente, 1875, 1598, 951 y 964 mg de β -caroteno.

5.4.5. Relación inversa entre parámetros productivos y perfil funcional de la grasa de la leche

Comparando los resultados de los cuatro tratamientos, se ha observado una relación inversa entre los valores de producción animal y de la mayor concentración de AG bioactivos y de antioxidantes liposolubles en la grasa de la leche. Dietas basadas en TMR

con alto porcentaje de almidón aumentan la producción de leche y de sólidos de la leche, mejoran su composición fisicoquímica, en particular el contenido en proteína, mejoran la persistencia de la lactación, la condición corporal de las vacas y la eficiencia de conversión de la materia seca en leche. En contrapartida, reducen la presencia de micronutrientes bioactivos en la leche con actividad positiva en la salud humana. Las dietas con alto contenido de pastos frescos operan en sentido contrario, reduciendo los valores relacionados con la producción y mejorando notablemente el perfil de la grasa de la leche desde un punto de vista de la presencia de componentes funcionales.

La elección entre ambos sistemas dependerá de diversos factores, entre ellos de la disponibilidad de tierra, del impacto del sistema de producción sobre el medio ambiente y de factores económicos relacionados con el precio percibido por la leche y el coste de los insumos. Sin embargo, a la vista de los resultados, es probable que, de forma general, el punto de equilibrio se encuentre próximo al manejo del tratamiento T2, que combina el pastoreo con la suplementación con ración TMR y un nivel moderado de concentrado (20%), toda vez que su nivel de producción fue comparable con la del tratamiento T3, basado en ración TMR con ensilajes y un nivel medio-alto de concentrados (37%) mientras que se mantiene un perfil de AG y de antioxidantes liposolubles que conforman los estándares más exigentes en cuanto a calidad de la grasa láctea, con una reducida proporción en AG saturados y alta en TVA, CLA c_{9t11} y omega-3 total, buenos índices de calidad de lípidos y contenidos elevados en vitamina E y carotenoides.

5.4.6. Sistemas de pastoreo vs. sistemas basados en TMR

La mayor parte de la leche de vaca de Galicia se produce, como se ha indicado en el capítulo anterior, en explotaciones ganaderas que siguen los modelos de alimentación basados en raciones TMR con niveles de concentrado comparables con los utilizados en los tratamientos T3 y T4 e incluso superiores. La contribución de la leche producida en sistemas parecidos al T2 y T1 es minoritaria, tanto la producida en situación de pastoreo convencional como, en mucha menor medida, de pastoreo ecológico.

Por otra parte debe ser tenido en cuenta que la leche producida en cualquier sistema de alimentación en Galicia es saludable y de una alta calidad nutricional, asegurada por los procedimientos de control y verificación del LIGAL. El mejor perfil de la grasa de la leche producida en sistemas extensivos basados en pastoreo, más rico en compuestos bioactivos con actividad e influencia positiva en la salud humana no implica *sensu contrario*, bajo

ningún concepto, una deficiente calidad de la leche producida en sistemas basados en TMR. Por el contrario, constituye una posible ventaja diferencial para los sistemas de pastoreo que, en todo caso, complementan a la forma mayoritaria de producción de leche de Galicia. Así mismo, es de interés considerar la revisión del paradigma acerca del consumo de grasa láctea, objeto de un debate actual donde hay crecientes evidencias de las ventajas nutricionales del consumo de leche entera en la salud humana (Rautianen *et al.*, 2016; Thorning *et al.*, 2017), que en todo caso se vería incrementada por la mayor concentración de micronutrientes bioactivos en la grasa de la leche producida con pastos frescos y, en menor medida, ensilados.

En este sentido es importante tener en cuenta que, como indica López-Iglesias (2015) , Galicia debe seguir siendo la principal productora de leche de consumo de España y complementar la línea principal de producto “commodity” con el impulso de sistemas que permitan diferenciar el producto y el proceso, dirigido a nichos de mercado más exigentes y dispuestos a pagar un mayor precio, que deberá ser repercutido en las granjas de forma equitativa. Por tanto, coincidiendo con el anterior autor, entendemos que el debate acerca de qué modelo de producción debe privilegiarse no debe producirse entre modelos extensivos e intensivos, sino acerca de la autonomía alimentaria de la explotación, los menores costes por litro que permitan una producción competitiva en un mercado abierto y el cumplimiento de los requerimientos del consumidor acerca de aspectos de bienestar animal, cuidado de medio ambiente y salud humana.

5.5. CONCLUSIONES

Los resultados del estudio en condiciones de alimentación controlada indica un excelente perfil graso para la leche de vacas que pastorean, desde el punto de vista de la presencia de AG bioactivos como ALA, TVA y CLA y de los índices de calidad de los lípidos, con un valor próximo al ideal de 1.0 para omega-6/omega-3, bajos valores para los índices aterogénico y trombogénico y el valor más alto para el que mide la relación entre los AG con efecto reductor/potenciador del colesterol en humanos.

La presencia en la leche de estos micronutrientes, así como de α -tocoferol, de β -caroteno, luteína y otros carotenoides menores, responde a su diferente concentración en los ingredientes de la dieta, con valores más elevados en los pastos frescos y comparativamente más reducidos en el ensilaje. El isómero minoritario de la vitamina E γ -tocoferol es más abundante en el ensilaje de maíz y los concentrados, estando su presencia en la leche positivamente relacionada con una mayor proporción de aquellos ingredientes.

La calidad de la grasa, así definida, esta positivamente relacionada con el porcentaje de pastos en la dieta, siendo por tanto más alta en la leche de vacas con acceso continuado al pasto comparada con la de las vacas de acceso diurno, la de éstas frente a la de vacas alimentadas con TMR y dentro de éstas, la del TMR que incluye ensilaje de hierba frente al de ensilaje de maíz.

Se establece así un claro gradiente de concentración en la leche de ácidos grasos bioactivos y de antioxidantes liposolubles, principalmente α -tocoferol y β -caroteno en la leche que diferencia entre sí los distintos tipos de dieta, con un perfil más favorable relacionado con la presencia de pastos frescos o de ensilaje de hierba y menos favorable conforme aumenta el ensilaje de maíz y la concentración de almidón en la dieta.

La recuperación aparente de ALA, α -tocoferol y β -caroteno de la dieta en la leche es baja, en particular para los antioxidantes, y está inversamente relacionada con la concentración de estos micronutrientes en la dieta.

Las diferencias relativas entre los distintos tratamientos en cuanto a la concentración en la leche de los ácidos grasos CLA c9t11, TVA y ALA, e índices más favorables de calidad de los lípidos, así como de α -tocoferol, β -caroteno, luteína y carotenoides menores, se mantuvieron en todas las estaciones a lo largo del ensayo.

Los resultados obtenidos en el experimento confirman contundentemente las observaciones del trabajo realizado en las granjas lecheras, en cuanto a la mejora del perfil graso y antioxidante, a la luz de los conocimientos médicos actuales, por una mayor presencia de pastos frescos en la dieta, a la que se contrapone una mayor productividad animal relacionada con un mayor nivel de almidón en la materia seca de la ración.

El punto de equilibrio dependerá de las condiciones de cada explotación y de la situación del mercado, pero en base a los resultados se postula que podría estar próximo a la combinación del pastoreo con una adecuada suplementación energética para compatibilizar una producción animal media-alta con una alta calidad de la grasa láctea, medida por la presencia de ácidos grasos y antioxidantes con carácter bioactivo, favorables para la salud humana.



6. CAPÍTULO IV

EFFECTO DE LA PROPORCIÓN VARIABLE DE ENSILAJES DE HIERBA Y DE MAÍZ EN DIETAS DE VACAS DE LECHE SOBRE LA PRODUCTIVIDAD ANIMAL Y LA COMPOSICIÓN DE LA LECHE

6.1. INTRODUCCIÓN

Actualmente, la preocupación por la relación entre la dieta y la salud humana motiva el aumento del interés de los consumidores acerca de los productos “saludables”. Entre estos se encuentra la leche, entre otras razones, por su contenido en determinados compuestos bioactivos, que, aunque pueden estar presentes en pequeñas cantidades en la leche, ejercen un efecto significativo en la salud humana (Parodi, 1997). Este contenido puede verse alterado significativamente mediante la alimentación de las vacas (Givens y Shingfield, 2006), resultando interesante el estudio de la relación entre las dietas más habituales en las granjas gallegas y la composición de la leche producida en estas, debido a la falta de información al respecto. Dentro de la variabilidad existente en la alimentación de las vacas lecheras gallegas, aproximadamente el 75% de la leche producida en Galicia procede de granjas en las que el ensilaje de maíz es el forraje base en la ración de las vacas en producción, siendo complementado, por lo general, con ensilaje de hierba en proporciones variables (Flores *et al.*, 2017). Con el objetivo de proporcionar información acerca de la composición de la leche producida en Galicia, se exponen en este apartado de la tesis los resultados obtenidos en un experimento de alimentación controlada, donde se estudió el efecto de distintas proporciones de los ensilajes de hierba y maíz en las dietas suministradas a las vacas sobre la productividad animal y composición de la leche, centrándose en el contenido en ácidos grasos y antioxidantes liposolubles.

6.2. MATERIAL Y MÉTODOS

6.2.1. Diseño experimental

El ensayo de alimentación animal realizado con vacas estabuladas alimentadas con diferentes dietas unifeed, con una proporción variable de ensilajes de hierba (EH) y de

maíz (EM), se realizó en el otoño-invierno del año 2016. El diseño estadístico fue de cuadrado latino completo (4 x 4), con 4 tratamientos (dietas), 4 períodos y 6 repeticiones (vacas) por período. La duración total del ensayo fue de 15 semanas, desde el 12 de septiembre al 23 de diciembre del 2016, con cuatro períodos experimentales de tres semanas cada uno, precedidos por un período preexperimental de tres semanas, en el cual los animales se adaptaron al tipo de alimentación y al sistema de control de alimentación.

6.2.2. Localización, siembra y cosecha del ensilaje de maíz

El experimento se desarrolló en la finca experimental del Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (CIAM) sita en Abegondo (A Coruña, 43° 15' N, 8° 18' W), representativa de la zona costera atlántica del norte de Galicia, con suelos de tipo cambisol húmico, franco-limosos de profundidad media, moderadamente ácidos (pH 5.78 ± 0.04 , porcentaje de saturación de aluminio 17.3 ± 4.9) y de riqueza media en fósforo y potasio (P: 27.4 ± 8.1 ppm y K: 257 ± 76.4 ppm).

El maíz forrajero (*Zea mays* L.) se cultivó, mediante las prácticas agronómicas habituales del CIAM, en una superficie de 4.0 ha. En la segunda mitad de mayo de 2015, inmediatamente tras la recolección de una pradera anual, se inició el laboreo necesario para la siembra del maíz, comenzando con el volteo del cultivo previo con un arado de vertedera (Överum Bruk, Överum, Suecia). A continuación, se aplicó la fertilización de fondo con una abonadora centrífuga (Bogballe, Uldum, Dinamarca), añadiendo al mismo tiempo el tratamiento insecticida. La fertilización aplicada fue de 800 kg/ha del complejo 15-15-15 y 225 kg/ha de CLK (60% de K_2O), con un aporte total por hectárea de 120 kg de N, 120 kg de P_2O_5 y 255 kg de K_2O . El insecticida aplicado fue el Clorpirifos 48%, a una dosis de 1.5 L/ha. Posteriormente, se sembró el maíz forrajero cv. Rulexx, a una dosis de siembra de 100.000 plantas por hectárea, con una sembradora combinada, que contaba con una grada rotativa de eje vertical, una tabla alisadora, una sembradora neumática y un rulo packer (rulo acanalado) trasero para compactar la semilla. Excepto la sembradora, de la marca Kuhn (Saverne, Francia), los demás componentes eran Alpego (Lonigo, Italia). Como última labor en la siembra se realizó el tratamiento herbicida en preemergencia, con una dosis de aplicación de 3.5 L/ha de Harness GTZ, aplicado con una cuba de fitosanitarios Hardi (Lleida, España).

El maíz sembrado tenía un ciclo de cultivo medio, con un período siembra-cosecha de 137 días. La cosecha se realizó a finales de septiembre, cuando la línea de leche del

grano se situó entre 1/3 y 3/4 de su recorrido, utilizando una cosechadora picadora autopropulsada John Deere (Illinois, Estados Unidos). El forraje se transportó en remolques hasta la zona de silos del CIAM, donde se conservó sin la adicción de ningún tipo de aditivo, en un silo tipo trinchera con paredes de cemento, cubierto por 2 capas de plástico para evitar la entrada de agua y aire hasta su posterior apertura y utilización en el ensayo de alimentación.

6.2.3. Localización, siembra y cosecha del ensilaje de hierba

Tras la recolección del ensilaje de maíz, la misma parcela se implantó una pradera anual, con la finalidad de un aprovechamiento para ensilar. La preparación del terreno se inició a finales de septiembre del año 2015, tras el volteo del terreno con un arado de vertedera, se fertilizó la pradera con una abonadora centrífuga. La fertilización se ajustó siguiendo las recomendaciones de Piñeiro *et al.* (2009) para cultivos forrajeros en suelos de moderada acidez y contenido medio en fósforo y potasa, precedidos por un encalado con calcáreas molidas equivalente a 1 t/ha de óxido de calcio. El cultivo recibió una fertilización de 60 kg de P_2O_5 y 200 kg de K_2O por hectárea, no recibiendo ningún tipo de fertilización nitrogenada. A continuación se sembró la parcela con una mezcla polifita de raigrás y leguminosas, que incluyó 10 kg/ha de raigrás híbrido (*Lolium hybridum* H.) diploide tipo italiano, cv. Barsilo; 5 kg/ha de trébol alejandrino (*Trifolium alexandrinum* L.), cv. Tigris; 5 kg/ha de trébol encarnado (*Trifolium incarnatum* L.), cv. Sant Antonio; 3 kg/ha de trébol migueliano (*Trifolium michelianum* S.), cv. Bolta y 3 kg/ha de trébol persa (*Trifolium resupinatum* L. ssp. *resupinatum*.), cv. Kyambro. Para realizar la siembra se utilizó una sembradora neumática combinada con grada rotativa vertical, tabla alisadora y sembradora (Alpego, Lonigo, Italia), pasando inmediatamente un rulo de fundición Vomer (León, España), independiente de la sembradora. El cultivo sufrió la competencia de especies adventicias de hoja ancha, aplicándose para su control en toda la superficie el herbicida Basagran (materia activa Bentazona 48%) a dosis de 1.5 L/ha con una cuba de tratamientos fitosanitarios.

El aprovechamiento del cultivo se realizó en un solo corte en la primera mitad del mes de mayo del 2016, con unas condiciones climáticas óptimas, tiempo soleado y sin lluvia. La hierba se cortó utilizando una segadora rotativa con acondicionador de dientes (John Deere 730 JD Ibérica, Madrid, España), trabajando con los deflectores abiertos para extender lo máximo posible el forraje sobre el terreno. Antes de la recolección solo se realizó una operación de hilerado, con un hilerador Kuhn (Saverne, Francia), previa a

la recolección, evitando una posible separación de las hojas de las leguminosas en volteos intermedios, lo que dificultaría su recolección e implicaría una disminución de la calidad nutricional del ensilaje. La hierba se dejó presecar durante 24 horas, tratando de conseguir un forraje con un contenido en materia seca (MS) próximo al 30-35%. El forraje presecado se recolectó con una rotoempacadora-picadora con cámara variable de pacas cilíndricas (Vicon Opticut RV-1601, Kverneland Group, Klepp Stasjon, Noruega). Acto seguido, con una envolvedora Morra Macchine Agricole s.n.c. (Cherasco CN, Italia), se revistieron las pacas con cinco capas de plástico extensible para asegurar su estanqueidad frente al aire. Debido a las buenas condiciones climáticas existentes durante el tiempo de secado en el campo, no fue necesario aplicar ningún aditivo al ensilado. Completada la recolección, las pacas se trasladaron y almacenaron en las instalaciones disponibles en el CIAM para tal efecto, hasta su posterior empleo en el ensayo de alimentación.

6.2.4. Selección y manejo de las vacas

El ensayo de experimentación animal se desarrolló en las naves ganaderas del CIAM. Se utilizaron 24 vacas de raza Holstein del rebaño experimental del CIAM, con un potencial lechero moderado (8.000-9.000 kg/lactación), de las cuales 4 eran primíparas. Las vacas seleccionadas se encontraban al comienzo de la fase descendente de la lactación, ya que se escogieron dentro del grupo de partos de verano, un grupo de unas 50 vacas paridas entre finales de junio y principios de agosto de 2016. Al tratarse de un diseño experimental en cuadrado latino, con 4 tratamientos (dietas), 4 períodos y 6 repeticiones (vacas), los animales se agruparon en lotes de 6 animales, tratando de ser homogéneos en función de los valores medios de la fecha de parto, producción de leche, número de partos (asignando, una primípara a cada grupo) y peso vivo. A continuación, a cada lote se le asignó, al azar, el tratamiento que le correspondía dentro de cada período. Al inicio del período experimental, de media, las vacas se encontraban en el día 62 ± 16.4 tras el parto, tenían una producción media diaria de 36.0 ± 8.8 kg de leche, un peso vivo de 628.0 ± 65.3 kg y una condición corporal de 2.77 ± 0.47 .

Los animales permanecieron estabulados durante todo el ensayo en una nave dotada con un sistema de comederos con control monitorizado sobre la alimentación individual de cada vaca (Agrolaval S.L., Gijón, España). El ordeño se realizó dos veces al día, a las 8:00 h y a las 19:00 h, en una sala de ordeño que contaba con el sistema de control de la producción Delaval AIPro System (Agrolaval S.L, Gijón, Asturias).

6.2.5. Alimentación de las vacas

Las vacas recibieron cuatro raciones diferentes en función del tratamiento asignado, todas estaban compuestas a base de ensilajes de hierba y maíz, heno de pradera estándar, concentrado con un contenido del 24% de proteína bruta (PB) y soja con un 44% de PB. En la Tabla 6.1. se puede observar la composición porcentual de cada alimento en las dietas, expresado sobre el total de MS ofertada.

Tabla 6.1. Composición porcentual de las dietas de los diferentes tratamientos (% MS total)

Tratamiento	Ensilajes		Heno	Concentrado base 24% PB	Soja 44% PB
	Hierba	Maíz			
T1	60	0	5	35	0
T2	40	20	5	32	3
T3	20	40	5	29	6
T4	0	60	5	26	9

PB: Proteína bruta

Las diferencias entre las raciones se encontraban en la proporción de los ensilajes, con un 60% de ensilaje de hierba y un 0% de ensilaje de maíz en el tratamiento 1 (T1), 40% EH – 20% EM en el tratamiento 2 (T2), 20% EH – 40% EM en el tratamiento 3 (T3) y 0% EH – 60% EM en el tratamiento 4 (T4). La composición del concentrado utilizado en el experimento se muestra en la Tabla 6.2. En la formulación de las raciones se trató de diseñar dietas isoproteicas, por lo que fue necesaria la inclusión de soja 44%, ya que, tras realizar unas analíticas a los ensilajes antes de comenzar el ensayo, el % de PB era mayor en el EH.

Tabla 6.2. Composición del concentrado utilizado en el ensayo

Ingrediente (% MS)	
Harina de maíz	18.2
Harina de cebada	20.0
Torta de soja 44	20.0
Torta de colza	18.7
DDGS de maíz	9.4
Cascarilla de soja	10.0
Núcleo mineral	2.5
Corrector	1.2

MS: Materia seca

El pesado y mezcla de los componentes de cada dieta se realizó en un carro autopropulsado de eje horizontal de 4 m³ de capacidad (Seko-Sam4, de SEKO

Industries SRL, Curtarolo PD, Italia), adaptado a las características de la nave donde se llevó a cabo el ensayo de alimentación. La cantidad total ofrecida por tratamiento se ajustó semanalmente, en función de los rechazos de la semana anterior, tratando de ofertar alrededor de un 10% más que el alimento consumido por las vacas. Las raciones se prepararon entre las 8.30 h y 10.30 h, permitiendo el acceso libre de las vacas a los comederos desde las 11.00 h hasta las 8.00 h del día siguiente, hora a la que se iniciaba el proceso de vaciado y limpieza de los comederos, para su posterior llenado.

6.2.6. Toma de muestras de la alimentación de las vacas

En la última semana de cada período experimental, durante tres días consecutivos, de martes a jueves, se tomaron muestras de todos los ingredientes y raciones unifeed. Las muestras, refrigeradas, se trasladaron inmediatamente al laboratorio, donde, en el mismo día de muestreo, se separaron en dos alícuotas, una de ellas se secó en estufa a 80°C durante 16 h, almacenándola a 4°C hasta posteriores análisis fisicoquímico y de ácidos grasos, mientras que la otra se congeló a -18°C en bolsas al vacío para su posterior análisis de antioxidantes liposolubles. Además, durante el vaciado del carro unifeed, se tomaron muestras diarias de cada ración unifeed para determinar el contenido en MS, realizando un proceso similar al descrito anteriormente para el secado de las muestras.

6.2.7. Toma de muestras de la leche producida durante el ensayo

Se tomaron muestras de leche de cada vaca en la última semana de cada período, en los 2 ordeños diarios, mañana y tarde, de 3 días consecutivos, de martes a jueves. Las muestras de leche constaron de cinco alícuotas de 50 ml cada una, tres con conservante Bronopol y dos sin conservante. Una de las muestras con conservante se trasladó refrigerada al Laboratorio Interprofesional Galego de Análise do Leite (LIGAL) para la determinación de la composición fisicoquímica, congelándose a -18°C las restantes, una hasta su análisis en el CIAM por cromatografía de gases (ácidos grasos) y otra como reserva. Las alícuotas sin conservante también se congelaron a -18°C, una hasta su análisis en el CIAM por HPLC (antioxidantes) y otra como reserva.

6.2.8. Medida de la ingesta de alimento y la producción de leche

El control de la ingestión de MS (IMS) se realizó diariamente, combinando los datos aportados por el sistema de comederos monitorizados y el % MS obtenido de la toma de muestras diaria del unifeed. Por otra parte, la medida de la producción de leche de cada

vaca también se realizó de forma diaria, mediante el sistema de registro automático de las producciones citado anteriormente.

6.2.9. Peso y condición corporal de las vacas

El peso vivo y la condición corporal de las vacas se midieron durante dos días consecutivos, tras el ordeño de mañana, al comienzo de cada período, incluyendo el preexperimental, y al final del último período. El peso se midió utilizando una báscula tipo jaula (visor SMART, Lleida, España). Antes de la entrada en la báscula, las vacas debían pasar por una manga de manejo, equipada con una puerta donde trabar a los animales, momento en que se midió la condición corporal. Siguiendo la metodología indicada por Edmonson *et al.* (1989), se utilizó una escala desde el 1 (extremadamente delgada) hasta el 5 (obesa), con incrementos de 0.25 puntos, por lo que la escala constaba de 17 puntos. La medida se realizó siempre por el mismo personal entrenado, que, mediante observación y palpación de la columna vertebral (parte delantera del espinazo, lomo en la parte central y parte trasera), coxis, sacro y base de la cola, evaluó el recubrimiento graso.

6.2.10. Análisis fisicoquímico de los alimentos

Las muestras de alimentos, previamente secadas en una estufa de aire forzado (Unitherm, Russell-Lindsey Engineering, Birmingham, Inglaterra) a 80°C durante 16 h (Castro, 1996) para realizar la determinación del contenido en MS por gravimetría, fueron molidas a 1 mm en un molino de martillos (Christy&Norris, Ipswich, Inglaterra). La determinación de la composición nutricional de las muestras de forrajes se realizó preferentemente mediante la tecnología NIRS (espectroscopia de infrarrojo cercano). La información espectral de las muestras, secas y molidas al menos 24 h antes, se obtuvo utilizando un espectrofotómetro monocromador Foss NIRSystem 6500 (Foss NIRSystem, Silver Spring, Washington, USA), situado en una cámara isoterma ($24 \pm 1^\circ\text{C}$), provisto de un módulo de giro que realiza medidas de reflectancia en la región espectral comprendida entre 400 y 2500 nm, a intervalos de 2 nm. La recogida de los datos espectrales y el análisis quimiométrico de los mismos se llevó a cabo mediante el programa WinISI II v. 1.5 (Infrasoft International, Port Matilda, PA, USA, 2000). Las ecuaciones de predicción desarrolladas en el CIAM (Pereira-Crespo *et al.*, 2012; Pereira-Crespo *et al.*, 2014; Pereira-Crespo *et al.*, 2015; Pereira-Crespo y Flores-Calvete, 2015) permiten estimar para los ensilajes y el heno la estimación de los contenidos en materia orgánica (MO), proteína bruta (PB), fibra ácido detergente

(FAD), fibra neutro detergente (FND), digestibilidad de la materia orgánica (DMO), almidón (ALM, en el caso del maíz), pH, ácidos acético y láctico, N amoniacal (N-NH_3) y N soluble (Nsol). En el caso de muestras “outliers”, muestras no reconocidas por las calibraciones NIRS disponibles, se analizaron en el laboratorio fisicoquímico del CIAM por métodos de referencia, ya citados en el anterior Capítulo II de esta tesis. El análisis de la composición química de los concentrados se realizó en el LIGAL, mediante NIRS, siguiendo procedimientos internos (LIGAL, 2019a).

6.2.11. Análisis fisicoquímico de la leche

La composición fisicoquímica de la leche fue analizada en el LIGAL según el procedimiento interno PE/LIGAL/34 (LIGAL, 2019b), mediante espectroscopía infrarroja FTMIR (Milkoscan, FOSS, Hillerød, Dinamarca). Las determinaciones realizadas fueron las concentraciones de materia grasa (MG), materia proteica (MP), lactosa (LACT), extracto seco magro (ESM), concentración de urea y punto crioscópico (FPD).

6.2.12. Análisis de ácidos grasos de los alimentos

La preparación de las muestras para el análisis de AG se realizó de igual forma que la preparación para el análisis fisicoquímico. La metodología empleada está citada en el Capítulo III de esta tesis.

6.2.13. Análisis de ácidos grasos de la leche

Los procedimientos de la extracción de la grasa de la leche (Norma Internacional ISO 14156:2001/IDF 172, 2001), la formación de los ésteres metílicos (Norma ISO 15884:2002/IDF 182, 2002), el análisis por cromatografía de gases (equipo Varian 3900 GC – FID con columna capilar BPX70) y la identificación y cuantificación de los ésteres metílicos de los AG se realizaron como se indicó anteriormente en el Capítulo II de esta tesis. Mediante esta metodología fue posible identificar y cuantificar un total de 45 AG individuales en las muestras de leche.

6.2.14. Análisis de antioxidantes de los alimentos y la leche

La extracción/purificación de los carotenoides (xantofilas y carotenos) y vitaminas en los alimentos y la leche se realiza siguiendo las metodologías indicadas en el Capítulo III de esta tesis.

6.2.15. Cálculos realizados

Las estimaciones del contenido en energía neta leche de los forrajes (a partir de la concentración de materia orgánica digestible en la MS materia seca, DOMD), del contenido en energía neta de los concentrados (a partir del contenido en FAD) se realizaron siguiendo la misma metodología descrita en el Capítulo II de la presente tesis.

Los índices de calidad de los lípidos (ratio omega-6/omega-3, ratio hipo/hiper colesterolémico de Santos-Silva *et al.*, (2002) e índices aterogénico y trombogénico de Ulbrich y Southgate 1991) se calcularon asimismo como se detalla en el apartado correspondiente del Capítulo II de esta tesis.

6.2.16. Análisis estadístico de los resultados

Los datos fueron analizados estadísticamente mediante el procedimiento GLM de SAS v. 9.4 (SAS Institute, 2012). Para las medidas sobre el animal en el ensayo de alimentación (ingestión, producción y composición de la leche), la unidad experimental fue el animal en cada día de muestreo de cada período, y el modelo utilizado fue $y = \mu + \alpha T + \beta P + (\alpha\beta) TxP + \epsilon$, donde el tratamiento, el período y su interacción se consideraron factores fijos. Dado el diseño del ensayo, donde todos los animales pasaron por todos los tratamientos, no se utilizaron covariables. La significación estadística de la tendencia lineal o cuadrática de los porcentajes relativos de ensilaje de maíz y de hierba en la ración se realizó mediante la opción CONTRAST del procedimiento GLM. La separación de medias se realizó mediante la opción PDIFF del procedimiento LSMEANS.

6.3. RESULTADOS

6.3.1 Condiciones climáticas durante el ensayo

En la Tabla 6.3 se muestran los datos pertenecientes a la estación meteorológica situada en la finca experimental del CIAM durante el año 2016. El ensayo se realizó en un otoño más seco de lo habitual, con un 30% menos de precipitaciones acumuladas entre los meses de septiembre y diciembre, comparadas con la media de precipitaciones de los últimos 25 años. Las precipitaciones no afectaron al desarrollo del ensayo, ya que este se realizó con el ganado estabulado, en cambio, la temperatura si podría haber afectado en mayor medida al ensayo, principalmente en la parte inicial, si se hubiesen alcanzado fases de calor extremo durante septiembre, pero se registraron unas temperaturas suaves, muy similares a la media de los últimos años.

Tabla 6.3. Precipitación acumulada y temperaturas medias mensuales durante el año 2016 en la estación de la finca experimental de Mabegondo

	Precipitación acumulada, mm		Temperatura media, °C	
	2016	Media 25 años [§]	2016	Media 25 años [§]
Enero	302	137	10.5	8.9
Febrero	253	108	9.3	8.8
Marzo	222	104	9.2	10.6
Abril	111	99	10.8	11.7
Mayo	126	80	14.3	14.2
Junio	53	47	17.1	16.9
Julio	2	31	19.8	18.6
Agosto	17	34	19.5	19.0
Septiembre	100	53	17.4	17.3
Octubre	41	137	14.4	14.8
Noviembre	141	157	10.0	11.0
Diciembre	53	131	9.8	9.4
Anual	1421	1117	13.5	13.4

[§] Media de los últimos 25 años en Mabegondo

6.3.2. Composición nutricional de los alimentos

Los valores medios de la materia seca, composición química, digestibilidad, valor energético y parámetros fermentativos de los forrajes utilizados a lo largo de las doce semanas de experimento se pueden observar en la Tabla 6.4. Los dos ensilajes tuvieron una buena calidad nutricional, con las diferencias frecuentes entre ambos, con un mayor contenido proteico en el EH (10.0% MS) que en el EM (8.0% MS), una menor digestibilidad del EH en comparación al EM (DMO: 64.7% vs. 71.3%), al igual que el aporte energético (ENLm: 1.34 vs. 1.58 Mcal/kg MS), mayor en el EM. Ambos ensilajes estuvieron correctamente fermentados, con unos valores de pH de 4.04 y 3.52,

para EH y EM, respectivamente, con unos contenidos de MS óptimos (36.7% EH y 33.8% EM). El heno de pradera presentó igualmente las características típicas de este forraje, un alto contenido en MS (86.7%), con una baja digestibilidad (DMO: 45.5%) y bajo aporte energético (ENLm: 0.90 Mcal/kg MS).

Tabla 6.4. Composición nutricional media de los ensilajes y el heno utilizados en el experimento

	Ensilaje de hierba		Ensilaje de maíz		Heno de pradera	
	Media	std	Media	std	Media	std
Materia seca (%)						
MS	36.7	5.87	33.8	0.79	86.7	6.52
Composición química (%MS)						
MO	88.3	1.06	96.1	0.27	93.3	0.93
PB	10.0	0.87	8.0	0.37	6.6	1.12
FAD	38.1	2.05	20.1	0.52	41.3	2.69
FND	54.2	3.58	38.0	0.59	65.9	4.44
ALM	-	-	29.2	1.70	-	-
Digestibilidad (%)						
DMO	64.7	3.97	71.3	0.64	45.5	2.80
DOMD	57.1	3.50	68.6	1.76	42.5	2.76
Valor energético						
ENLm (Mcal/kg MS)	1.34	0.08	1.58	0.04	0.90	0.06
UFL/kg MS	0.79	0.05	0.93	0.02	0.53	0.03
Parámetros fermentativos						
pH	4.04	0.27	3.52	0.03	-	-
Láctico (%MS)	6.5	2.26	7.8	0.66	-	-
Acético (%MS)	1.1	0.69	1.3	0.22	-	-
N-NH ₃ (%N total)	5.9	1.85	11.3	0.47	-	-
N-Soluble (%N total)	40.7	5.65	71.3	2.02	-	-

std.: desviación estándar de la media; MS: materia seca; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; FAD: fibra ácido detergente; FND: fibra neutro detergente; ALM: almidón; DMO: digestibilidad de la MO; DOMD: concentración de MO digestible en la MS; ENLm: energía neta leche a nivel de mantenimiento; UFL: unidades forrajeras leche (1 UFL=1.7 Mcal/kg MS); Láctico y Acético: ácidos de fermentación

En la Tabla 6.5 se muestran los valores medios de la composición del concentrado utilizado durante el ensayo. Las características más destacables son un contenido en PB del 23.5% MS, próximo al esperado, que era del 24.0% MS, y un elevado aporte energético (ENLm: 1.99 Mcal/kg MS), a la vez que suministró una cantidad estándar de vitaminas y el 0.10% MS de ácido graso α -linolénico, que representa un 3.2% sobre el total de EE. Las principales características de los alimentos, descritas anteriormente, influyeron en las raciones unifeed utilizadas en el ensayo (Tabla 6.6), excepto en el contenido en PB, que se igualó en todos los tratamientos con la inclusión de soja, incrementando su proporción en las raciones con más EM, de forma que las cuatro raciones fuesen isoproteicas, con un contenido próximo al 15.5% MS. La digestibilidad,

al igual que el contenido en almidón, se incrementó con el aumento del contenido de EM en las raciones, pasando en el T1 de una DMO de un 66.9% a un 72.0% en el T4.

Tabla 6.5. Composición químico-bromatológica del concentrado

	Media	std	c.v.
Materia seca (%)			
MS	86.6	0.36	0.41
Composición nutricional (%MS)			
MO	94.9	0.04	0.04
PB	23.5	0.30	1.29
FB	7.0	0.80	13.13
FAD	8.4	0.96	13.13
FND	23.5	3.08	13.13
EE	3.2	0.18	5.57
ALM	23.7	1.18	4.97
Valor energético			
ENLm (Mcal/kg MS)	1.99	0.01	0.58
Vitaminas			
Vitamina A (UI/kg MS)	30000		
Vitamina D3 (UI/kg MS)	4500		
Vitamina E (alfa-tocoferol, mg/kg)	60		
Ácidos grasos			
Alfa-linolénico (% MS)	0.11	0.005	4.5
% alfa-linolénico s/EE	3.2%		

std.: desviación estándar de la media; c.v.: coeficiente de variación; MS: materia seca; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; FB: fibra bruta; FAD: fibra ácido detergente; FND: fibra neutro detergente; EE: extracto etéreo; ALM: almidón; ENLm: energía neta leche a nivel de mantenimiento

Tabla 6.6. Composición nutricional media de las mezclas unifeed utilizadas en el experimento, por tratamiento

	Proporción ensilaje de hierba:ensilaje de maíz (% MS)							
	T1 (60:0)		T2 (40:20)		T3 (20:40)		T4 (0:60)	
	Media	std	Media	std	Media	std	Media	std
Materia seca (%)								
MS	46.5	1.44	45.2	1.15	45.0	0.86	45.2	0.55
Composición química (%MS)								
MO	88.0	0.55	90.6	1.57	92.1	0.79	94.3	0.57
EE	3.2	0.16	3.2	0.09	3.2	0.08	3.2	0.11
PB	15.3	0.77	15.3	0.81	15.4	0.73	15.8	0.72
FB	21.2	1.11	18.6	1.17	17.1	1.29	15.7	1.00
FAD	26.9	1.39	23.7	1.34	21.8	1.39	20.2	1.24
FND	42.7	1.72	39.1	1.38	37.0	1.64	35.6	1.37
ALM	12.1	1.67	20.2	3.54	24.9	3.09	30.1	2.49
Digestibilidad (%)								
DMO	66.9	0.94	69.2	0.86	70.6	1.19	72.0	1.19

MS: materia seca; std.: desviación estándar de la media; MO: materia orgánica; EE: extracto etéreo; PB: proteína bruta; FB: fibra bruta; FAD: fibra ácido detergente; FND: fibra neutro detergente; ALM: almidón; DMO: digestibilidad de la MO

6.3.3. Contenido en ácidos grasos de los alimentos

Como se puede observar en la Tabla 6.7, la concentración de ácidos grasos totales fue menor en el EH en comparación al EM (5.52 vs. 8.29 g/kg MS). Las proporciones de los SF) fueron similares en ambos ensilajes, con valores ligeramente superiores para el EH (24.2 vs. 21.0% AGt), con una presencia mayoritaria del ácido palmítico (C16:0) en ambos casos, 15.9% AGt para EH y 15.3% AGt para EM. Sí existieron diferencias en la proporción de los AG insaturados, con una mayor presencia de AG monoinsaturados en el EM (5.92 vs. 31.5% AGt), con el ácido oleico como AG mayoritario de este grupo, tanto en el EH (4.86% AGt) como en el EM (30.5% AGt). De forma opuesta, la proporción de AG poliinsaturados fue más elevada en el EH que en el EM (69.9 vs. 47.5% AGt). Dentro de los PUFA, en el EH el AG más importante fue el α -linolénico representando un 46.2% de los AGt, seguido por el linoleico (22.8% AGt). Mientras, en el EM, el linoleico fue mayoritario, representando un 44.1% de los AGt.

Tabla 6.7. Composición de AG de los ensilajes de hierba y de maíz

	Ensilaje de hierba		Ensilaje de maíz	
	Media	std	Media	std
Perfil de AG (% AG total)				
C12:0	1.95	0.39	0.49	0.07
C14:0	0.71	0.22	0.35	0.09
C15:0	0.56	0.27	0.05	0.04
C16:0	15.9	3.27	15.3	0.46
C16:1	0.32	0.14	0.42	0.05
C17:0	0.10	0.12	0.18	0.09
C18:0	1.40	0.36	2.81	0.63
C18:1n9c	4.86	0.84	30.5	3.57
C18:2n6c	22.8	4.45	44.1	6.93
C18:3n6	0.43	0.15	0.00	0.00
C18:3n3	46.2	9.33	3.35	1.64
C20:0	0.15	0.21	0.56	0.29
C20:3n3	0.05	0.06	0.00	0.00
C20:4n6	0.41	0.25	0.12	0.06
C20:1	0.55	0.15	0.39	0.04
C22:0	1.77	0.52	0.63	0.23
C22:1n9	0.19	0.07	0.12	0.05
C24:0	1.66	0.61	0.64	0.17
SFA	24.2	7.06	21.0	2.10
MUFA	5.92	1.12	31.5	5.35
PUFA	69.9	8.00	47.5	5.23
Concentración de AG (g/kg MS)				
AG total	5.52	1.01	8.29	1.64

std.: desviación estándar de la media; AG: ácidos grasos; SFA: AG saturados; MUFA: AG monoinsaturados; PUFA: AG poliinsaturados

6.3.4. Contenido en antioxidantes liposolubles de los alimentos

En la Tabla 6.8 se muestran los valores medios de los antioxidantes liposolubles presentes en los alimentos que compusieron las distintas raciones unifeed. Los contenidos del heno en vitamina E y carotenoides fueron inferiores a los de los ensilajes de hierba y de maíz. El contenido del EH, el EM y el concentrado en el isómero α -tocoferol de la vitamina E fue semejante para los tres ingredientes de la ración (20.93, 22.32 y 24.38 mg/kg MS, respectivamente), mientras que los de γ -tocoferol fueron inferiores en el EH (3.68 vs. 11.77 y 9.30 mg/kg MS del EM y concentrado, respectivamente). En cuanto al contenido en carotenoides, el concentrado fue una fuente muy pobre de estos compuestos, mientras, en los ensilajes, siendo el contenido superior en el EH comparado con el EM, los más abundantes fueron el *all-trans*- β -caroteno (25.62 vs. 17.48 mg/kg MS) y la luteína (19.46 vs. 9.05 mg/kg MS).

Tabla 6.8. Valores medios de vitamina E, xantofilas y carotenos de los alimentos

	Ensilaje Hierba		Ensilaje Maíz		Heno		Concentrado	
	Media	std	Media	std	Media	std	Media	std
Vitamina E (mg/kg MS)								
α -Tocoferol	20.93	6.39	22.32	5.53	6.83	3.12	24.38	2.28
γ -Tocoferol	3.68	0.80	11.77	3.22	1.35	0.39	9.30	1.16
Carotenoides (mg/kg MS)								
Neoxantina	0.55	0.09	0.14	0.06	0.32	0.23	0.03	0.003
Violaxantina	0.24	0.03	0.25	0.02	0.17	0.07	0.10	0.002
Anteraxantina	0.10	0.02	0.04	0.01	0.02	0.01	0.01	0.000
Luteína	19.46	2.06	9.05	4.52	3.60	1.77	0.69	0.089
Zeaxantina	1.90	0.45	0.88	0.31	0.28	0.15	0.15	0.061
β -Criptoxantina	0.29	0.10	0.21	0.14	0.01	0.00	0.07	0.023
<i>all-trans</i> - β -caroteno	25.62	7.64	17.48	3.53	0.74	0.31	0.11	0.007
<i>c9</i> - β -caroteno	4.72	1.34	3.20	0.61	0.14	0.05	0.05	0.002
<i>c13</i> - β -caroteno	1.30	0.37	1.15	0.23	0.10	0.02	0.06	0.002

std.: desviación estándar de la media

6.3.5. Efecto de la proporción de ensilaje sobre la producción, composición fisicoquímica e ingestión voluntaria

Los efectos de la substitución del ensilaje de hierba por el de maíz sobre los resultados de producción y composición fisicoquímica de la leche se exponen en la Tabla 6.9. A pesar de existir diferencias significativas entre los diferentes tratamientos en la producción, en todos se puede destacar un buen comportamiento productivo, con rendimientos superiores a los 30 L de leche corregida al 3.5% de grasa y 3.2% de proteína por día. La producción aumentó desde los 31.3 L/día del T1 (EH-EM: 60-0%) y 33.2 L/día del T2 (EH-EM: 40-20%) hasta marcar un máximo en el T3 (EH-EM: 20-

40%) con 36.1 L/día, con una producción significativamente más elevada que en los dos tratamientos con menor proporción de maíz. El T4 (EH-EM: 0-60%), con una menor producción corregida de leche (34.6 L/día) que el T3, fue significativamente superior al T1, que contenía únicamente ensilaje de hierba.

Los resultados de la producción en kg/día de MG presentan diferencias significativas entre los tratamientos, mostrando un efecto cuadrático, con una menor cantidad en los dos más extremos, T1 y T4, que igualan su rendimiento (1.19 vs. 1.18 kg/día, respectivamente) debido al mayor % de grasa del T1 (4.03 vs. 3.39%) que compensa la mayor producción por vaca del T4. El tratamiento con un mayor rendimiento en MG fue de nuevo el T3 (1.32 kg/día), a pesar de tener un % de MG menor que el T2 (4.21 vs. 3.84%), tratamiento con el que se obtuvieron 1.28 kg/día de MG.

El % de LACT no se vio influenciado por las diferentes proporciones de los ensilajes en la ración, por lo que la composición de ESM en % se comportó de la misma forma que la MP, al tratarse la MP y la LACT de los dos componentes mayoritarios del ESM. El % de MP se incrementó con la mayor inclusión de maíz en las dietas, presentando diferencias significativas entre los tratamientos T1 y T2 (3.14 y 3.19%, respectivamente), con una mayor proporción de EH y los tratamientos T3 y T4 (3.32 y 3.35%, respectivamente), con una mayor proporción de EM. Este mayor % de MP, unido a una mayor producción de leche, originó unas mayores diferencias en la producción en kg/día de MP y ESM, manteniendo la significación entre los tratamientos con más hierba y más maíz, con cifras desde 0.92 kg/día de MP en el T1 hasta 1.16 kg/día de MP en el T4 y desde 2.54 kg/día de ESM en el T1 hasta 3.09 kg/día de ESM en el T4. Esta misma diferencia entre tratamientos se mantuvo para la producción de sólidos totales, con el valor más bajo en el T1 (3.72 kg/día) y el mayor en el T3 (4.34 kg/día), al no llegar a compensar el T4 (4.26 kg/día) la menor producción de MG con la mayor producción de MP.

No se encontraron diferencias significativas ni en la concentración de urea, entre 330 y 340 mg/L en los cuatro tratamientos, FPD (punto crioscópico), próximo a -0.530°C en todos los tratamientos.

La IMS (ingestión de MS), medida en comederos con control monitorizado, aumentó con la inclusión de EM en las raciones, con valores desde 21.9 kg MS/vaca y día en el T1 hasta 24.1 kg MS/vaca y día en el T4. Con la IMS, unida a la producción, se obtuvo la eficiencia en la transformación de leche, que mostró un mejor resultado en el T3

(1.50 L leche/kg MS), sin llegar a ser estadísticamente diferente al resto de tratamientos, que tuvieron una eficiencia de 1.43 L leche/kg MS. El consumo de pienso fue moderado en todos los tratamientos, con valores inferiores a los 250 g/L de leche.



Tabla 6.9. Efecto del porcentaje de ensilajes de hierba y de maíz sobre la producción y composición fisicoquímica de la leche

	Tratamiento: Proporción de ensilajes de hierba y maíz (% MS)						Contrastes		Significación (P)		
	T1 (60:0)	T2 (40:20)	T3 (20:40)	T4 (0:60)	s.e.m.	d.m.s.	Linear	Cuadrático	Trat	Per	Trat x Per
n	72	72	72	72							
Producción de leche (PL, L/día)											
PL no corregida	29.5	30.6	34.3	34.9	0.795	2.22	***	NS	***	**	NS
PL corregida al 3.5% MG	32.0	33.9	36.2	34.2	0.855	2.38	*	*	*	NS	NS
PL corregida al 3.5% MG y 3.2% MP	31.3	33.2	36.1	34.6	0.817	2.28	***	*	***	NS	NS
Producción de sólidos (kg/día)											
Materia grasa	1.19	1.28	1.32	1.18	0.010	0.029	NS	***	***	NS	NS
Materia proteica	0.92	0.97	1.13	1.16	0.023	0.065	***	NS	***	NS	NS
Extracto seco magro	2.54	2.65	3.03	3.09	0.065	0.182	***	NS	***	+	NS
Sólidos totales	3.72	3.93	4.34	4.26	0.095	0.266	***	NS	***	NS	NS
Composición fisicoquímica											
Materia grasa (%)	4.03	4.21	3.84	3.39	0.060	0.167	***	***	***	***	NS
Materia proteica (%)	3.14	3.19	3.32	3.35	0.027	0.076	***	NS	***	***	**
Lactosa (%)	4.75	4.78	4.81	4.80	0.020	0.056	NS	NS	NS	***	*
Extracto seco magro (%)	8.61	8.68	8.84	8.88	0.038	0.107	***	NS	***	***	**
Urea (mg/L)	339	335	336	331	6.368	17.76	NS	NS	NS	***	NS
FPD (x -1°C)	0.528	0.531	0.530	0.531	0.001	0.004	NS	NS	NS	NS	NS
Ingestión de MS, eficiencia y CC											
IMS (kg MS/vaca y día)	21.9	23.0	23.9	24.1	0.335	0.934	***	NS	***	NS	NS
Eficiencia (L leche/kg MS)	1.43	1.43	1.50	1.43	0.023	0.065	NS	NS	+	*	NS
Condición corporal (1-5)	3.00	3.06	3.04	3.10	0.026	0.126	NS	NS	NS	NS	NS

MS: materia seca; s.e.m.: error estándar de la media; d.m.s.: diferencia mínima significativa entre dos medias de la misma fila ($\alpha=0.05$); P: significación del test F en el ANOVA. NS: $P>0.05$; *: $P<0.05$; **: $P<0.01$; ***: $P<0.001$; Trat: tratamiento; Per: período; n: número de observaciones; FPD: punto crioscópico

6.3.6. Efecto de la proporción de ensilaje sobre el perfil de ácidos grasos de la leche

Como se puede comprobar en la Tabla 6.10, la proporción de ensilajes influye significativamente sobre los principales grupos de AG. La proporción de SFA mostró un efecto cuadrático, al ser significativamente más alta en el T3 (72.8% AGt) que en el resto de los tratamientos (70.3, 70.9 y 71.3% AGt para T1, T2 y T4, respectivamente), entre los que, a pesar de no existir diferencias significativas, se observa una tendencia de crecimiento en la concentración de SFA conforme se introducía una mayor cantidad de EM en la dieta. De forma inversa se comportaron los MUFA, observándose una leche con un contenido significativamente menor en monoinsaturados en el T3 (22.6% AGt), con una mayor proporción en los tratamientos con una mayor cantidad de EH, marcando un máximo en el T1 (25.1% AGt). El consumo de EM como único ensilaje en la ración (T4) aumentó significativamente la proporción de PUFA (4.0% AGt) respecto del resto de tratamientos. En este se observa un efecto cuadrático, ya que el tratamiento con la mínima concentración de PUFA fue el T2 (3.6% AGt), sumado a una tendencia de aumento linear desde el mismo T2 hasta el máximo de T4.

La distinta proporción de los ensilajes también afectó significativamente a las cantidades de AG clasificados según su longitud. En la suma de los AG de cadena corta (SCFA: C4-C10) se aprecia una tendencia descendente con el aumento en la ración del EM, con un valor significativamente inferior en el T4 (7.4% AGt). Por otra parte, el total de AG de cadena media (MCFA: C12-C17, excepto el C16) y AG de cadena larga (LCFA: C18-C24) estuvieron influenciados por el ensilaje mayoritario en la ración, pero de forma inversa entre ellos, ya que en los tratamientos con mayor cantidad de EH, los MCFA se encontraron en menor cantidad (22.2 y 22.3% AGt en T1 y T2 vs. 25.2 y 25.0% AGt en T3 y T4) y los LCFA en mayor cantidad (35.6 y 35.8% AGt en T1 y T2 vs. 31.9 y 31.5% AGt en T3 y T4). El otro grupo mayoritario, el de los AG C16 (FA16), en el que el palmítico es el principal AG individual, mostró un efecto de incremento linear con la inclusión de EM, mezclado con un efecto cuadrático, ya que el mínimo se situó en el T2 (33.3% AGt) y el máximo en el T4 (36.1% AGt).

Los AG individuales con más repercusión sobre la salud humana también variaron significativamente en función de la proporción de ensilajes en la dieta. La proporción de ácido vaccénico (TVA) en la leche fue mayor en los tratamientos con un único ensilaje (1.27 y 1.19% AGt en el T1 y T4, respectivamente) respecto a los tratamientos que incluían a los dos ensilados (1.12 y 1.08% AGt en el T2 y T3, respectivamente). El

efecto de las dietas sobre el CLA fue similar al que tuvieron sobre el TVA, concentraciones más altas en dietas con un único ensilaje, con la diferencia de que, entre los dos ensilados, en el EM se observó significativamente una mayor concentración (0.62 y 0.72% AGt en el T1 y T4, respectivamente). Por otro lado, la leche de las vacas que consumieron una mayor proporción de EM en la ración tuvo una mayor cantidad de ácido linoleico (LA), aumentando desde un 1.84% de AGt en el T1 hasta un 2.18% de AGt en el T4 y una menor proporción de ácido α -linoleico, descendiendo desde un 0.52% de AGt en el T1 hasta un 0.30% de AGt en el T4.

La cantidad de Omega 6 y Omega 3 está muy ligada a la de los AG mayoritarios dentro de estos grupos, el LA en el Omega 6 y el ALA en el Omega 3, por lo que los valores de Omega 6 fueron mayores en los tratamientos con más EM (desde 2.03% de AGt en el T1 hasta 2.50% de AGt en el T4) y los de Omega 3 mayores en los tratamientos con más EH, con un efecto cuadrático por el que la proporción más baja se situó en el T3 (0.75% de AGt en el T1 y 0.64% de AGt en el T3). Al ser estos los valores implicados en la relación Omega 6/Omega 3, está aumentó con la inclusión de EM, con un mínimo de 2.73 en el T1 y un máximo de 3.90 en el T4. La relación entre los ácidos trans del C18:1 (t_{11}/t_{10}) fue significativamente mayor en las raciones unifeed que incluían una mayor cantidad de EH, descendiendo desde 5.29 en el T1 hasta 2.25 en el T4.

En los índices de calidad de los lípidos también se observaron diferencias en función de la alimentación de las vacas. La ratio hipo-hipercolesterolémico (h_H) fue mayor en los tratamientos con más EH (0.50, 0.52, 0.42 y 0.42 en T1, T2, T3 y T4). Por otro lado, tanto el índice aterogénico (IA) como el índice trombogénico (IT) siguieron las mismas tendencias, con valores que aumentaron entre los T1 (3.06 y 3.28 para IA e IT) y T3 (3.58 y 3.72 para IA e IT), descendiendo en el T4 (3.37 y 3.52 para IA e IT).

El cálculo del balance de α -linolénico muestra una mayor ingestión de ALA en los tratamientos con más cantidad de EH (44.4 vs. 14.8 g/vaca y día entre T1 y T4), un mayor output (6.0 vs. 3.5 g/vaca y día entre T1 y T4), pero una menor tasa de transferencia (13.4 vs. 23.2 % entre T1 y T4).

En la Tabla 6.11 se muestran las proporciones sobre AGt y las desviaciones típicas de todos los AG individuales identificados y cuantificados en las cromatografías.

Tabla 6.10. Efecto del porcentaje de ensilajes de hierba y de maíz en la ración sobre el perfil de AG de la leche

	Tratamiento: Proporción de ensilajes de hierba y maíz (% MS)						Contrastes		Significación (P)		
	T1 (60:0)	T2 (40:20)	T3 (20:40)	T4 (0:60)	s.e.m.	d.m.s.	Linear	Cuadrático	Trat	Per	Trat x Per
n	72	72	72	72							
Ácidos grasos (% AG)											
SFA	70.3	70.9	72.8	71.3	0.410	1.14	*	*	***	***	NS
MUFA	25.1	24.7	22.6	23.9	0.386	1.08	**	*	***	***	NS
PUFA	3.7	3.6	3.7	4.0	0.053	0.147	***	**	***	***	***
SCFA	8.7	8.6	8.4	7.4	0.151	0.421	***	**	***	***	NS
MCFA	22.2	22.3	25.2	25.0	0.313	0.873	***	NS	***	***	**
FA16	33.5	33.3	34.5	36.1	0.442	1.23	***	*	***	***	***
LCFA	35.6	35.8	31.9	31.5	0.510	1.42	***	NS	***	***	***
TVA	1.27	1.12	1.08	1.19	0.032	0.091	+	***	***	NS	***
LA	1.84	1.93	2.09	2.18	0.033	0.092	***	NS	***	***	***
ALA	0.52	0.45	0.35	0.30	0.009	0.024	***	NS	***	*	NS
CLAc9t11	0.62	0.52	0.56	0.72	0.019	0.054	***	***	***	NS	NS
Omega6	2.03	2.21	2.39	2.50	0.141	0.394	***	NS	***	***	***
Omega3	0.75	0.70	0.64	0.65	0.015	0.043	***	*	***	NS	NS
Ratios de AG											
Omega6/Omega3	2.73	3.20	3.77	3.90	0.045	0.126	***	***	***	***	***
t11/ t10 (C18:1)	5.29	4.41	3.02	2.25	0.115	0.320	***	NS	***	***	***
Índices de calidad de los lípidos											
h_H	0.50	0.52	0.42	0.42	0.019	0.053	***	NS	***	*	NS
IA	3.06	3.16	3.58	3.37	0.067	0.188	***	*	***	***	NS
IT	3.28	3.47	3.72	3.52	0.065	0.180	**	**	***	*	NS
Balance de alfa-linolénico (ALA)											
Ingestión (g/vaca y día)	44.4	35.7	25.9	14.8	0.490	1.37	***	NS	***	NS	NS
Output (g/vaca y día)	6.0	5.5	4.5	3.5	0.169	0.472	***	NS	***	*	NS
Transferencia (%)	13.4	15.3	17.1	23.2	0.564	1.57	***	***	***	***	**

MS: materia seca; s.e.m.: error estándar de la media; d.m.s: diferencia mínima significativa entre dos medias de la misma fila ($\alpha=0.05$); P: significación del test F en el ANOVA. NS: $P>0.05$; *: $P<0.05$; **: $P<0.01$; ***: $P<0.001$; Trat: tratamiento; Per: período; n: número de observaciones; SFA: AG saturados; MUFA: AG monoinsaturados; PUFA: AG poliinsaturados; SCFA: AG de cadena corta; MCFA: AG de cadena media; FA16: AG C16; LCFA: AG de cadena larga; TVA: ácido vaccénico; LA: ácido linoleico; ALA: AG alfa-linolénico; CLA: ácido linoleico conjugado; Omega6: Σ AG de la serie omega-6; Omega3: Σ AG de la serie omega-3; h-H: ratio hipo-hipercolesterolémico; IA: índice aterogénico; IT: índice trombogénico

Tabla 6.11. Valores medios del perfil de ácidos grasos de la leche por tratamiento

n	Tratamiento: Proporción de ensilajes de hierba y maíz (% MS)							
	T1 (60:0)		T2 (40:20)		T3 (20:40)		T4 (0:60)	
	Media	std	Media	std	Media	std	Media	std
	72		72		72		72	
AG individuales (% AG)								
C4:0	5.02	0.94	4.94	0.88	4.65	0.96	4.05	0.86
C6:0	2.39	0.33	2.41	0.35	2.40	0.39	2.11	0.39
C8:0	1.24	0.16	1.28	0.20	1.36	0.19	1.19	0.25
C10:0	2.91	0.45	3.07	0.59	3.54	0.47	3.34	0.55
C10:1c9	0.26	0.14	0.26	0.14	0.30	0.14	0.28	0.13
C11:0	0.06	0.02	0.06	0.03	0.13	0.04	0.23	0.14
C12:0	3.41	0.60	3.62	0.75	4.36	0.60	4.30	0.66
C13:0	0.12	0.03	0.12	0.03	0.20	0.05	0.31	0.15
C14:0iso	0.10	0.02	0.10	0.02	0.08	0.02	0.07	0.02
C14:0	12.29	1.72	12.25	1.86	13.32	1.65	12.74	1.40
C15:0iso	0.29	0.03	0.28	0.04	0.26	0.03	0.22	0.05
C14:1c9	1.05	0.29	0.99	0.26	1.13	0.26	1.28	0.33
C15:0aiso	0.46	0.08	0.43	0.08	0.49	0.08	0.45	0.07
C15:0	1.20	0.25	1.07	0.20	1.43	0.36	1.81	0.69
C15:1c10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C16:0	31.74	3.83	31.57	4.80	32.74	3.96	33.96	4.02
C16:1c9n7	1.80	0.41	1.76	0.36	1.72	0.36	2.09	0.49
C17:0	0.55	0.11	0.54	0.09	0.56	0.11	0.64	0.12
C18:0	9.04	1.84	9.64	1.96	7.84	1.31	6.38	1.64
C18:1t6:t9	0.37	0.12	0.35	0.05	0.41	0.11	0.51	0.15
C18:1t10	0.34	0.50	0.26	0.04	0.44	0.35	0.91	0.79
C18:1t11	1.27	0.25	1.12	0.22	1.08	0.25	1.19	0.40
C18:1t12	0.23	0.07	0.22	0.03	0.27	0.07	0.30	0.07
C18:1c9n9	19.20	2.80	19.11	4.18	16.56	2.08	16.49	2.87
C18:1c11n7	0.43	0.16	0.41	0.15	0.47	0.18	0.63	0.19
C18:1c12	0.13	0.02	0.15	0.02	0.18	0.03	0.21	0.08
C18:2m6	0.05	0.03	0.05	0.03	0.05	0.03	0.05	0.03
C18:2cn6	1.84	0.33	1.93	0.29	2.09	0.32	2.18	0.36
C18:3n6	0.03	0.01	0.03	0.01	0.04	0.01	0.04	0.01
C18:3n3	0.52	0.10	0.45	0.08	0.35	0.06	0.30	0.07
C20:0	0.19	0.03	0.19	0.03	0.16	0.03	0.13	0.03
CLAc9t11	0.62	0.16	0.52	0.12	0.56	0.14	0.72	0.22
CLAx	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01
CLAx1	0.16	0.03	0.15	0.03	0.14	0.02	0.12	0.03
C20:1c11n9	0.03	0.01	0.03	0.01	0.02	0.01	0.03	0.01
C21:0	0.04	0.01	0.04	0.01	0.04	0.01	0.03	0.01
C20:2n6	0.02	0.00	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02	0.00
C20:3n6	0.09	0.03	0.10	0.03	0.12	0.03	0.13	0.05
C20:3n3	0.16	0.04	0.15	0.04	0.18	0.05	0.22	0.08
C22:1n9	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C22:0	0.04	0.01	0.04	0.01	0.03	0.01	0.02	0.01
C20:4n6	0.01	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00
C22:2n6	0.08	0.02	0.07	0.01	0.07	0.01	0.06	0.02
C23:0	0.03	0.01	0.03	0.01	0.03	0.01	0.02	0.01
C20:5n3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C24:0	0.06	0.01	0.06	0.01	0.05	0.01	0.04	0.01
C24:1n9	0.01	0.01	0.01	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00
C22:5n3	0.09	0.02	0.08	0.02	0.09	0.02	0.10	0.03
C22:6n3	0.02	0.02	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02	0.02

MS: materia seca; std.: desviación estándar de la media; n: número de observaciones; CLA: ácido linoleico conjugado; CLAx y CLAx1: isómeros de CLA desconocidos

6.3.7. Efecto de la proporción de ensilaje sobre la concentración de antioxidantes liposolubles en la leche

La substitución del ensilaje de hierba por el de maíz modifica la concentración en antioxidantes liposolubles de la leche (Tabla 6.12). El contenido en retinol desciende linealmente conforme la proporción de EH en la dieta es menor (562.0 vs. 471.5 µg/L leche en T1 vs. T4). La cantidad de α -tocoferol, isómero mayoritario de la vitamina E, también fue mayor en los tratamientos con más EH, siendo en este caso más alta en el T2 (871.0 µg/L), manteniéndose como el más bajo el T4 (691.9 µg/L). Mientras, el comportamiento del isómero minoritario de la vitamina E (γ -tocoferol) ocurrió a la inversa, con cantidades más altas en los tratamientos con una alta proporción de EM, alcanzando el mayor valor en el T3 (69.5 µg/L) y el menor en el T1 (48.4 µg/L).

Los contenidos en xantofilas y carotenos se ven igualmente afectados por el tipo tratamiento. En la luteína, la xantofila con una mayor concentración en la leche, se observa una tendencia cuadrática, existiendo únicamente diferencias significativas con el T4 (4.2 µg/L), al ser este más bajo que los restantes tratamientos, entre los que se alcanza el valor más alto en el T2 (7.4 µg/L). De igual forma, en el caroteno con un mayor peso en la leche, el *all-trans*- β -caroteno, el T4 fue el único tratamiento con una concentración significativamente menor, 97.3 µg/L, mientras que en el T3 se obtuvo la concentración más alta (127.6 µg/L).

Tabla 6.12. Efecto del porcentaje de ensilajes de hierba y de maíz en la ración sobre la concentración de vitaminas A, E y carotenoides en la leche

µg/L leche	Proporción ensilaje de hierba:ensilaje maíz (% MS)				s.e.m.	d.m.s.	Contrastes		Significación (P)		
	T1 (60:0)	T2 (40:20)	T3 (20:40)	T4 (0:60)			Linear	Cuadrático	Trat	Per	Trat x Per
n	72	72	72	72							
Vitaminas											
Retinol	562.0	523.9	501.0	471.5	9.4	26.2	***	NS	***	***	NS
α-Tocoferol	848.0	871.0	794.4	691.9	31.6	88.1	**	NS	**	*	NS
γ-Tocoferol	48.4	58.8	69.5	65.9	1.93	5.39	***	**	***	***	**
Carotenoides											
Luteína	6.9	7.4	6.7	4.2	0.26	0.72	***	***	***	NS	NS
Zeaxantina	1.3	1.4	1.3	0.8	0.06	0.15	***	***	***	NS	NS
β-Criptoxantina	2.3	2.6	2.9	2.5	0.11	0.30	+	**	**	NS	NS
all- <i>t</i> -βcaroteno	118.4	123.3	127.6	97.3	4.34	12.10	*	**	***	NS	NS
c9-βcaroteno	1.1	1.3	1.2	0.8	0.14	0.40	NS	*	NS	NS	*
c13-βcaroteno	5.1	5.4	5.5	3.9	0.31	0.87	*	*	*	*	NS

MS: materia seca; s.e.m.: error estándar de la media; d.m.s: diferencia mínima significativa entre dos medias de la misma fila ($\alpha=0.05$); P: significación del test F en el ANOVA. NS: $P>0.05$; *: $P<0.05$; **: $P<0.01$; ***: $P<0.001$; Trat: tratamiento; Per: período; n: número de observaciones

6.3.8. Efecto del período sobre la producción, composición fisicoquímica e ingestión voluntaria

En la Tabla 6.13, que se muestra a continuación, se puede observar el efecto del período sobre el rendimiento lechero y la composición fisicoquímica de la leche. Con el avance de la lactación se aprecia, numéricamente, una bajada de la producción, corregida en grasa y proteína, en el último período (34.4 vs. 32.5 L/día en P1 vs. P4), sin llegar a ser estadísticamente significativa, como si sucedió en la producción no corregida (33.9 vs. 30.5 L/día en P1 vs. P4).

Tabla 6.13. Efecto del período de ensayo sobre la producción y composición fisicoquímica de la leche

	Período de ensayo				<i>s.e.m.</i>	<i>d.m.s.</i>	<i>P</i>
	P1	P2	P3	P4			
n	72	72	72	72			
Producción de leche (PL, L/día)							
PL no corregida	33.9	33.4	31.6	30.5	0.795	2.22	**
PL corregida al 3.5% MG	34.9	34.5	34.4	32.5	0.855	2.38	NS
PL corregida al 3.5% MG y 3.2% MP	34.4	34.3	34.1	32.5	0.817	2.28	NS
Producción de sólidos (kg/día)							
Materia grasa	1.25	1.23	1.28	1.19	0.010	0.029	NS
Materia proteica	1.05	1.07	1.05	1.03	0.023	0.065	NS
Extracto seco magro	2.90	2.93	2.79	2.71	0.065	0.182	+
Sólidos totales	4.14	4.16	4.07	3.90	0.095	0.266	NS
Composición fisicoquímica							
Materia grasa (%)	3.71	3.70	4.11	3.93	0.060	0.167	***
Materia proteica (%)	3.09	3.20	3.33	3.38	0.027	0.076	***
Lactosa (%)	4.82	4.86	4.74	4.73	0.020	0.056	***
Extracto seco magro (%)	8.56	8.72	8.84	8.88	0.038	0.107	***
Urea (mg/L)	304	324	325	388	6.368	17.76	***
FPD (x -1 °C)	0.529	0.530	0.530	0.531	0.001	0.004	NS
Ingestión de MS y eficiencia							
IMS (kg MS/vaca y día)	22.9	23.4	23.6	23.2	0.335	0.934	NS
Eficiencia (L leche/kg MS)	1.49	1.47	1.44	1.40	0.023	0.065	*

P1: 3 a 23 octubre; P2: 24 octubre a 13 noviembre; P3: 14 noviembre a 4 diciembre; P4: 5 a 23 diciembre; *s.e.m.*: error estándar de la media; *d.m.s.*: diferencia mínima significativa entre dos medias de la misma fila ($\alpha=0.05$); *P*: significación del test F en el ANOVA. NS: $P>0.05$; *: $P<0.05$; **: $P<0.01$; ***: $P<0.001$; n: número de observaciones; MG: materia grasa; MP: materia proteica; FPD: punto crioscópico

La producción de sólidos se mantuvo constante a lo largo del ensayo, debido a la existencia de diferencias significativas en la composición fisicoquímica, con mayores valores en los últimos períodos, que compensaron la menor producción de leche. Aumentaron tanto la MG (3.70 vs. 4.11% en T2 vs. T3), como la MP (3.09 vs. 3.38% en T1 vs. T4) y el ESM (8.56 vs. 8.88% en T1 vs. T4). La excepción a este crecimiento porcentual durante la evolución del ensayo fue la proporción de LACT, que descendió

de una forma más tendida (4.86 vs. 4.73% en T2 vs. T4) que el crecimiento de la MP, sin repercutir en el crecimiento porcentual del ESM.

6.3.9. Efecto del período sobre el perfil de ácidos grasos de la leche

Con el avance del ensayo de alimentación, la proporción de SFA en la leche fue incrementando (Tabla 6.14), a la vez que disminuía la proporción de monoinsaturados, con diferencias significativas entre el primer período y el resto, con datos de, para SFA, 69.9 vs. 72.3% AGt en los períodos P1 y P4, respectivamente, y MUFA 25.6 vs. 23.3% AGt en los períodos P1 y P4. En los PUFA también se observaron diferencias significativas, pero con una tendencia diferente, ya que ascendió su proporción desde el P1 (3.70% AGt) hasta el P3 (3.93% AGt), bajando en el P4 hasta representar el 3.61% de los AGt. Clasificando los AG en función del tipo de cadena, los SCFA y MCFA evolucionaron de la misma forma, aumentando desde el P1 hasta el P3, volviendo a descender en el P4. La cantidad mínima de SCFA se registró en el P1 (7.47% AGt) y la máxima en el P3 (9.03% AGt), mientras que, en los MCFA, la mínima se registró en el P4 (22.0% AGt) y la máxima en el P3 (25.9% AGt). Por lo tanto, los FA16 y LCFA tuvieron un comportamiento inverso, con los mínimos en el P3 (32.9 y 32.2% AGt, respectivamente) y máximos en P4 para los FA16 (36.3% AGt) y en P1 para los LCFA (35.5% AGt).

Entre los AG individuales, el TVA y el CLA no presentaron diferencias significativas, mientras que el linoleico osciló de igual forma que los SCFA y MCFA, aumentando hasta el P3 (2.18% AGt), para acabar descendiendo en el P4 (1.85% AGt). En cambio, el α -linoleico fue significativamente más bajo en el P4 (0.37% AGt) que en el resto de los períodos, donde en el P1 se alcanzó el valor más alto (0.42% AGt). La oscilación registrada en el LA afectó directamente a la evolución a lo largo del ensayo del Omega 6, con la proporción más alta en el P3 (2.49% AGt) y la más baja en el P4 (2.13% AGt). Al no registrarse diferencias significativas en el Omega 3, la relación Omega 6/Omega 3 fluctuó de la misma forma que el LA y el Omega 6, con un aumento desde el P1 (3.46) hasta el P3 (3.62), descendiendo en el P4 (3.10). El índice h_H fue significativamente más alto en el P1 (0.52), manteniéndose durante el resto del ensayo en valores próximos a 0.45. El índice aterogénico aumentó desde el comienzo del ensayo P1 (3.10) hasta el P3 (3.53), descendiendo de nuevo en el P4 (3.27), mientras que el índice trombogénico se incrementó con el desarrollo del ensayo desde 3.36 en el P1 hasta 3.64 en el P4.

Tabla 6.14. Efecto del período de ensayo sobre el perfil de los principales AG de la leche

	Período de ensayo				<i>s.e.m.</i>	<i>d.m.s.</i>	<i>P</i>
	P1	P2	P3	P4			
n	72	72	72	72			
Ácidos grasos (% AG)							
SFA	69.9	71.4	71.9	72.3	0.410	1.14	***
MUFA	25.6	24.0	23.3	23.3	0.386	1.08	***
PUFA	3.70	3.76	3.93	3.61	0.053	0.147	***
SCFA	7.47	8.15	9.03	8.39	0.151	0.421	***
MCFA	23.1	23.8	25.9	22.0	0.313	0.873	***
FA16	33.9	34.4	32.9	36.3	0.442	1.23	***
LCFA	35.5	33.7	32.2	33.3	0.510	1.42	***
TVA	1.21	1.15	1.10	1.18	0.032	0.091	NS
LA	2.00	2.01	2.18	1.85	0.033	0.092	***
ALA	0.42	0.41	0.41	0.37	0.009	0.024	**
CLAc9t11	0.73	0.71	0.74	0.78	0.019	0.054	NS
Omega6	2.28	2.24	2.49	2.13	0.034	0.097	***
Omega3	0.68	0.66	0.70	0.70	0.015	0.043	NS
Ratios de AG							
Omega6/Omega3	3.46	3.46	3.62	3.10	0.045	0.126	***
t11/ t10 (C18:1)	3.65	3.76	3.25	4.23	0.115	0.320	***
Índices de calidad de los lípidos							
h_H	0.52	0.45	0.44	0.44	0.019	0.053	*
IA	3.10	3.29	3.53	3.27	0.067	0.188	***
IT	3.36	3.49	3.51	3.64	0.065	0.180	*
Balance de alfa-linolénico (ALA)							
Ingestión (g/vaca y día)	29.6	30.2	30.8	30.1	0.490	1.37	NS
Output (g/vaca y día)	5.0	4.9	5.0	4.3	0.169	0.472	*
Transferencia (%)	18.3	17.9	18.0	15.0	0.564	1.57	***

P1: 3 a 23 octubre; P2: 24 octubre a 13 noviembre; P3: 14 noviembre a 4 diciembre; P4: 5 a 23 diciembre; s.e.m.: error estándar de la media; d.m.s: diferencia mínima significativa entre dos medias de la misma fila ($\alpha=0.05$); *P*: significación del test F en el ANOVA. NS: $P>0.05$; *: $P<0.05$; **: $P<0.01$; ***: $P<0.001$; n: número de observaciones; SFA: AG saturados; MUFA: AG monoinsaturados; PUFA: AG poliinsaturados; SCFA: AG de cadena corta; MCFA: AG de cadena media; FA16: AG C16; LCFA: AG de cadena larga; TVA: ácido vaccénico; LA: ácido linoleico; ALA: AG alfa-linolénico; CLA: ácido linoleico conjugado; Omega6: Σ AG de la serie omega-6; Omega3: Σ AG de la serie omega-3; h_H: ratio hipo-hipercolesterolémico; IA: índice aterogénico; IT: índice trombogénico

La evolución a lo largo del ensayo de los valores medios de todos los AG identificados y cuantificados en las cromatografías se pueden observar en la Tabla 6.15.

Tabla 6.15. Valores medios del perfil de AG de la leche por período

n	Período de ensayo							
	P1		P2		P3		P4	
	Media	std	Media	std	Media	std	Media	std
72	72		72		72		72	
AG individuales (% AG)								
C4:0	4.12	0.74	4.60	0.85	5.12	1.19	4.81	0.80
C6:0	2.14	0.25	2.31	0.34	2.52	0.52	2.34	0.28
C8:0	1.21	0.15	1.24	0.22	1.39	0.26	1.23	0.13
C10:0	3.11	0.59	3.17	0.46	3.52	0.69	3.07	0.38
C10:1c9	0.33	0.07	0.37	0.05	0.30	0.16	0.10	0.02
C11:0	0.12	0.09	0.10	0.05	0.12	0.10	0.15	0.14
C12:0	3.83	0.86	3.86	0.59	4.32	0.90	3.70	0.51
C13:0	0.18	0.11	0.17	0.07	0.18	0.12	0.21	0.15
C14:0iso	0.08	0.03	0.09	0.02	0.09	0.03	0.09	0.02
C14:0	12.38	1.41	12.77	0.94	13.89	2.34	11.57	0.74
C15:0iso	0.24	0.05	0.27	0.03	0.27	0.04	0.27	0.05
C14:1c9	1.05	0.32	1.13	0.31	1.24	0.32	1.04	0.22
C15:0aio	0.44	0.07	0.46	0.05	0.50	0.11	0.43	0.06
C15:0	1.37	0.55	1.35	0.40	1.47	0.50	1.33	0.56
C15:1c10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C16:0	31.98	5.61	32.55	2.67	30.89	4.26	34.66	2.90
C16:1c9n7	1.90	0.41	1.84	0.39	1.99	0.49	1.65	0.37
C17:0	0.62	0.10	0.56	0.11	0.60	0.12	0.50	0.10
C18:0	8.58	2.88	8.32	1.76	7.59	1.64	8.37	1.80
C18:1t6:t9	0.45	0.15	0.42	0.12	0.43	0.14	0.35	0.07
C18:1t10	0.64	0.76	0.49	0.52	0.49	0.56	0.33	0.20
C18:1t11	1.21	0.35	1.15	0.25	1.10	0.26	1.18	0.31
C18:1t12	0.27	0.07	0.27	0.07	0.27	0.08	0.23	0.05
C18:1c9n9	19.00	4.10	17.68	2.34	16.75	3.78	17.85	2.35
C18:1c11n7	0.55	0.17	0.51	0.19	0.50	0.22	0.40	0.14
C18:1c12	0.17	0.08	0.16	0.05	0.16	0.03	0.18	0.05
C18:2m6	0.06	0.02	0.07	0.02	0.06	0.02	0.01	0.01
C18:2cn6	2.00	0.35	2.01	0.36	2.18	0.36	1.85	0.24
C18:3n6	0.03	0.01	0.04	0.01	0.03	0.01	0.04	0.01
C18:3n3	0.42	0.11	0.41	0.10	0.41	0.13	0.37	0.11
C20:0	0.16	0.05	0.18	0.03	0.17	0.03	0.16	0.04
CLAc9t11	0.61	0.17	0.60	0.18	0.59	0.16	0.62	0.21
CLAx	0.01	0.01	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00
CLAx1	0.12	0.03	0.13	0.02	0.15	0.02	0.16	0.03
C20:1c11n9	0.03	0.01	0.03	0.01	0.03	0.01	0.03	0.01
C21:0	0.03	0.01	0.04	0.01	0.04	0.01	0.04	0.01
C20:2n6	0.02	0.01	0.03	0.00	0.03	0.00	0.02	0.00
C20:3n6	0.09	0.03	0.11	0.03	0.11	0.03	0.13	0.05
C20:3n3	0.15	0.06	0.16	0.04	0.18	0.05	0.23	0.06
C22:1n9	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C22:0	0.03	0.01	0.04	0.01	0.04	0.01	0.04	0.01
C20:4n6	0.01	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00
C22:2n6	0.07	0.02	0.08	0.02	0.07	0.02	0.07	0.02
C23:0	0.03	0.01	0.03	0.01	0.03	0.01	0.03	0.01
C20:5n3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C24:0	0.05	0.02	0.06	0.01	0.05	0.01	0.06	0.02
C24:1n9	0.01	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00
C22:5n3	0.09	0.03	0.09	0.02	0.09	0.02	0.09	0.02
C22:6n3	0.02	0.01	0.03	0.01	0.02	0.02	0.01	0.01

P1: 3 a 23 octubre; P2: 24 octubre a 13 noviembre; P3: 14 noviembre a 4 diciembre; P4: 5 a 23 diciembre; std.: desviación estándar de la media; n: número de observaciones; CLA: ácido linoleico conjugado; CLAx y CLAx1: isómeros de CLA desconocidos

6.3.10. Efecto del período sobre la concentración de antioxidantes liposolubles en la leche

En la Tabla 6.16 se presentan los resultados de la evolución seguida por los antioxidantes liposolubles durante los cuatro períodos del ensayo. La concentración de retinol y α -tocoferol se incrementó desde el P1 (505.3 y 731.4 $\mu\text{g/L}$ leche) hasta el P3 (601.0 y 885.4 $\mu\text{g/L}$ leche), descendiendo nuevamente en el P4 (364.6 y 747.0 $\mu\text{g/L}$ leche). Mientras, el γ -tocoferol aumentó su concentración desde el comienzo (50.4 $\mu\text{g/L}$ leche en el P1) hasta el final (66.7 $\mu\text{g/L}$ leche en el P4). Los carotenoides no mostraron variaciones con el avance del ensayo, excepto un caroteno menor, el $c13$ - β -caroteno con una mayor concentración en el P1 (6.0 $\mu\text{g/L}$ leche) que en el resto de los períodos, con una concentración igual en los tres (4.6 $\mu\text{g/L}$ leche).

Tabla 6.16. Efecto del período de ensayo sobre la concentración de vitaminas A, E y carotenoides en la leche

$\mu\text{g/L}$ leche	Período de ensayo				<i>s.e.m.</i>	<i>d.m.s.</i>	<i>P</i>
	P1	P2	P3	P4			
n	72	72	72	72			
Vitaminas							
Retinol	505.3	581.6	601.0	364.6	9.4	26.2	***
α -Tocoferol	731.4	835.9	885.4	747.0	31.6	88.1	*
γ -Tocoferol	50.4	60.3	65.9	66.7	1.93	5.39	***
Carotenoides							
Luteína	5.7	6.5	6.6	6.2	0.26	0.72	NS
Zeaxantina	1.2	1.2	1.3	1.2	0.06	0.15	NS
β -Criptoxantina	2.7	2.5	2.6	2.4	0.11	0.30	NS
all- <i>t</i> - β caroteno	126.7	117.0	116.4	105.8	4.34	12.10	NS
<i>c9</i> - β caroteno	1.2	1.1	1.0	1.0	0.14	0.40	NS
<i>c13</i> - β caroteno	6.0	4.6	4.6	4.6	0.31	0.87	*

P1: 3 a 23 octubre; P2: 24 octubre a 13 noviembre; P3: 14 noviembre a 4 diciembre; P4: 5 a 23 diciembre; *s.e.m.*: error estándar de la media; *d.m.s.*: diferencia mínima significativa entre dos medias de la misma fila ($\alpha=0.05$); *P*: significación del test F en el ANOVA. NS: $P>0.05$; *: $P<0.05$; **: $P<0.01$; ***: $P<0.001$; n: número de observaciones

6.4. DISCUSIÓN

Según los criterios globales de calidad seguidos para la categorización de los ensilajes de hierba y maíz descritos por Flores (2004), que están actualmente en uso en el LIGAL, la calidad de los ensilajes utilizados en el ensayo fue aceptable. Estos criterios basan su clasificación en la DMO, contenido en PB y calidad fermentativa, en el caso del ensilaje de hierba, mientras que, en el ensilaje de maíz, en la DMO, pH y contenido en ALM. Las características nutricionales son similares a la media de las muestras recibidas en el LIGAL entre los años 2003 y 2015, cuyos resultados se presentan en el trabajo, ya citado en el capítulo II de esta tesis, de Pereira-Crespo *et al.* (2016). Las muestras obtenidas en las granjas descritas en dicho capítulo también tenían unas características similares a las de los alimentos empleados en este trabajo. La diferencia más destacable es un menor contenido proteico en el ensilaje hierba (10% MS) en comparación a la media (12.7% MS) de las muestras recibidas.

Los AG principales en los ensilajes comparados con los citados por Ferlay *et al.* (2006) en un trabajo donde estudiaban la relación de las dietas con la composición de la leche, son similares. El ensilaje de hierba utilizado en este ensayo tenía 5.5 g/kg MS de AGt con el α -linolénico y el linoleico como AG mayoritarios, representando un 46.2% y un 22.8% de los AGt, mientras que en el citado estudio, la cantidad de AGt era de 3.7 g/kg MS con un 52.2% de AGt de α -linolénico y un 13.4% de AGt de linoleico. La situación se repite en el ensilaje de maíz, con una mayor cantidad de AGt en este trabajo, 8.3 vs 4.0 g/kg, con el ácido linoleico como AG mayoritario 44.1 vs 48.6% de AGt y el oleico en segunda posición 30.5 vs 23.7% de AGt. Las cantidades y AG mayoritarios son semejantes a los resultados obtenidos en los ensilajes de las granjas del capítulo II.

La proporción de los isómeros de la vitamina E en los alimentos es muy similar en el caso del α -tocoferol, siendo mayor la proporción de γ -tocoferol en el ensilaje de maíz. Por otro lado, la concentración en los principales carotenoides es mayor en el ensilaje de hierba, tanto en luteína como en β -caroteno. La composición en carotenoides en el ensilaje de hierba presentó valores muy bajos, especialmente de *all-t*- β -caroteno y luteína, en comparación a los citados por Calderón *et al.* (2007), con una proporción 10 veces menor, a la vez que presentaba datos similares en el caso del ensilaje de maíz.

En un trabajo realizado por Khan *et al.* (2015), en el que analizaron 13 publicaciones en las que se estudiaba la sustitución del ensilaje de hierba por ensilaje de maíz,

encontraron un aumento de la IMS de +2.0 kg, con una alta variabilidad (entre +0.1 y +4.5 kg) y un aumento de la producción de leche de +1.9 kg, con un rango aún más amplio (desde -1.1 hasta 6.7 kg). La variación en el ensayo descrito en este capítulo se encuentra en la media de la IMS (+2.2 kg entre el T1 y T4) y en el rango superior en la producción sin corregir por grasa y proteína (+5.4 kg entre el T1 y T4). La mayor IMS puede estar relacionada con un menor contenido en FND de la ración y un mayor aporte de energía (Sterk *et al.*, 2011), que se combina con una degradación más rápida en el rumen, debido a un alto contenido en almidón y un menor tamaño de partícula (Abrahamse *et al.*, 2008). Al igual que indica Hart *et al.* (2015), se asocia el incremento de la producción de leche con el incremento de la IMS. En la composición fisicoquímica la mayor variación se encuentra en la MG, al tratarse del componente más sensible a los cambios en la alimentación (Lee *et al.*, 2014). La proporción de MG en la leche fue mayor en los tratamientos con mayor proporción de ensilaje de hierba, en concordancia con el estudio realizado por Nielsen *et al.* (2006), donde en un ensayo con dietas con una proporción forraje:concentrado de 70:30, siendo todo el forraje ensilaje de hierba obtiene un 4.16% vs. 3.41% con todo ensilaje de maíz, cifras muy similares a los tratamientos T1 vs. T4 (4.03 vs. 3.39% MG). Esta bajada en la proporción de MG en la leche de dietas con una mayor proporción de ensilaje de maíz se relaciona con una mayor proporción de fibra en la dieta en los tratamientos con ensilaje de hierba (Sutton, 1986). La proporción de proteína aumentó linealmente entre el T1 y T4 un 7% (3.14 vs. 3.35%), aumento similar (+10%) al encontrado por Shingfield *et al.* (2005) en un estudio con una concentración de forraje:concentrado de 65:35. Este incremento puede ser debido a que la síntesis de proteína microbiana es más eficiente con un mayor aporte de energía (Givens y Rulquin, 2004). La urea es similar en todos los tratamientos y se encuentra en un rango normal de 200-400 mg/L (Bastin *et al.*, 2009).

Con el incremento de la proporción de ensilaje de maíz se incrementa el contenido en los AG de cadena corta y media (<16:0) y aumenta el contenido en FA16, resultados comparables a los obtenidos por Kliem *et al.* (2008) en un estudio de características similares, donde el forraje suponía el 50% de la dieta. La inclusión de maíz aporta una mayor ingesta de ácido linoleico, mientras que el ensilaje de hierba incrementa el aporte de α -linolénico, a la vez que tienen una diferente relación almidón/FND (Khan *et al.*, 2012b). Estas diferencias se ven reflejadas en la producción de leche, con un incremento linear en las cantidades de cada AG en función de la mayor proporción de cada

alimento, mayor LA en los tratamientos con más ensilajes de maíz y más ALA en los tratamientos con más ensilajes de hierba, en línea con lo descrito por diversos autores, por ejemplo, Chilliard *et al.* (2001). El CLA en este ensayo muestra una tendencia cuadrática, al igual que la observada por Kliem *et al.* (2008), con una mayor proporción en el tratamiento con más cantidad de maíz. En este sentido la bibliografía existente no es concluyente, ya que existen estudios que citan un aumento del CLA en las dietas con más ensilaje de maíz que de hierba (Ferlay *et al.*, 2006), mientras otras no citan diferencias (Chilliard *et al.*, 2000). En cambio, sí está claro que una mayor proporción de maíz incrementa el contenido C18:1 ω 10 Nielsen *et al.* (2006), cuyo incremento puede estar relacionado con una menor proporción de MG en la leche (Shingfield y Griinari, 2007).

El LA es el cabeza de la serie omega-6 y el ALA es el cabeza de la serie omega-3, por lo que en este ensayo se incrementa la relación omega-6/omega-3 con el incremento de maíz, al sumarse el efecto del incremento de LA y el descenso de ALA. A pesar de estas diferencias, todos los tratamientos se encuentran por debajo del rango de 5 (máximo 3.90 en T4), que no se debería superar dentro de una alimentación humana equilibrada (MacLean *et al.*, 2004), indicando el beneficioso papel del consumo de leche en una dieta humana saludable. La relación C18:1 ω 11/C18:1 ω 10 fue más elevada en los tratamientos con una mayor proporción de ensilaje de hierba, lo cual es de marcado interés nutricional, ya que al efecto funcional del TVA se une el hecho de que valores altos del isómero C18:1 ω 10 en la dieta podrían estar relacionados con un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares en humanos (Hodgson *et al.*, 1996).

La concentración de retinol, α -tocoferol y β -caroteno está influenciada directamente por la cantidad ingerida por la vaca, aunque solo es excretada en la leche una pequeña proporción (Jensen *et al.*, 1999). En los distintos alimentos, como observamos anteriormente, no se encuentran grandes diferencias en la cantidad de α -tocoferol, en cambio, si se encuentra una mayor concentración en la leche con más ensilaje de hierba (+23% en el T1 que en el T4), que expresando en función de la concentración de grasa se iguala, por la menor cantidad MG en el T4. Las cifras obtenidas en este ensayo (848-692 μ g/L leche) son similares a las encontradas por Fall y Emanuelson (2011), 880 μ g/L leche, en un estudio realizado en granjas suecas, en el período en el que las vacas estaban estabuladas. Transformando la concentración a μ g/g grasa, en todos los tratamientos se registraron valores similares a 20 μ g/g grasa, cifras cercanas a las

citadas por Butler *et al.* (2008), 23.9 µg/g grasa, con una alimentación basada en ensilaje de hierba y concentrado, con una proporción 55:45. Tanto en el retinol, en el β-caroteno y la luteína sucede lo mismo, concentraciones más altas en la leche que procede de vacas que se alimentaron con una mayor proporción de ensilajes de hierba, que expresada la concentración en µg/g grasa no presenta diferencias entre los tratamientos, excepto en la luteína. Las concentraciones encontradas por Fall y Emanuelson (2011) en el retinol son más bajas que las de este estudio (320 vs. 562-472 µg/L), mientras que las de β-caroteno son superiores (180 vs. 128-97 µg/L).



6.6. CONCLUSIONES

La substitución del ensilaje de hierba por ensilaje de maíz, en las condiciones de ensayo, afectó a la producción de leche y a su composición fisicoquímica, a la ingestión voluntaria y a la eficiencia de conversión de la MS de la dieta, observándose un óptimo alrededor de la proporción 20:40 (en % MS) de ensilajes de hierba y de maíz, respectivamente.

La variación de la proporción entre ambos ensilajes modifica el perfil graso de la leche de forma significativa para la mayor parte de los AG individuales. Se observa que cuando se incrementa la presencia del ensilaje de hierba en la dieta, en detrimento del ensilaje de maíz, aumentan el contenido en α -linolénico y el valor de la ratio entre los isómeros trans-11 y trans-10 del C18:1, mientras que disminuye el valor de la relación entre el total de AG omega-6 y omega-3. Los resultados sugieren un perfil más saludable, desde el punto de vista de la nutrición humana, de la leche producida con una mayor proporción de ensilaje de hierba.

El contenido en vitaminas de la leche, tanto retinol como α -tocoferol es mayor en los tratamientos con un ensilaje de hierba, al igual que el contenido en xantofilas y carotenos, observándose una tendencia cuadrática para los contenidos de luteína y las restantes xantofilas, así como del all-*trans*- β caroteno y el minoritario 13-cis- β caroteno, con un máximo en los tratamientos integrados por ambos ensilajes. Nuevamente, los resultados apuntan a la ventaja de incluir ensilaje de hierba en la dieta de las vacas, desde el punto de vista de obtener una mayor concentración de antioxidantes en la leche.



7. CONCLUSIONES GENERALES

- Los resultados obtenidos en el análisis de estructura de las explotaciones confirman la existencia de un gradiente de intensificación productiva, relativo a un mayor uso del ensilaje de maíz, con dos modelos productivos coexistiendo en las granjas gallegas, difiriendo en el tamaño de la explotación y del rebaño, en el uso del suelo y en el sistema de alimentación: por un lado el modelo de pequeñas granjas, basado en el consumo de pastos frescos y ensilados, con vacas menos productivas y más longevas, menores cargas y uso de concentrado reducido, que coexiste con un modelo más intensivo basado en cultivos forrajeros, uso de concentrado medio-alto, alta carga y vacas de alta producción menos longevas, siendo éste el responsable de la mayor parte de la producción de leche de Galicia.
- Ambos modelos comparten la característica común de carecer de suficiente superficie forrajera y el deseo de las personas titulares de la explotación de aumentar la base territorial, apuntando a un modelo menos intensivo, más basado en la tierra para asegurar la sostenibilidad de las explotaciones.
- El análisis de las dietas de las granjas y de las muestras de leche de tanque demostró que la concentración de ácidos grasos y antioxidantes liposolubles bioactivos en la leche es marcadamente superior en las granjas orgánicas, comparadas con las de pastoreo convencional, en los sistemas de pastoreo comparados con la alimentación con raciones completas y, dentro de éstas, es mejor en las que integran ensilajes de hierba comparadas con las basadas en ensilaje de maíz. Las diferencias relativas entre sistemas se mantienen a lo largo de las estaciones del año.
- No fue posible dilucidar, en base a la proporción de pastos en la dieta ni a los análisis nutricionales efectuados a las muestras de forrajes, el porqué de la mejor calidad de la grasa en la leche ecológica comparada con la de pastoreo convencional. Se especula que la posible causa de la mejora podría ser la mayor diversidad botánica de los pastos en las explotaciones ecológicas, extremo que se propone para un estudio posterior.

- Los resultados experimentales permitieron corroborar las observaciones obtenidas en el estudio realizado en las granjas, mostrando inequívocamente una mejora de la composición del perfil de ácidos grasos y de antioxidantes liposolubles de la leche ligada a la presencia de pastos frescos y en menor medida, al uso de ensilajes de hierba en la alimentación de las vacas.
- Se obtuvo una relación de 1/3 a 2/3 en las proporciones relativas de los ensilajes de hierba y maíz, que optimizan la producción de leche y de sólidos de la leche, mientras que proporciones superiores de ensilaje de maíz mejoran la composición de la grasa a costa de reducir la producción de leche. La modificación de los valores nutricionales de los ensilajes de hierba y de maíz pueden cambiar la proporción óptima observada en el experimento.
- Se verificó la utilidad de la composición de ácidos grasos y de antioxidantes de la leche para la discriminación, con un alto grado de probabilidad, entre muestras de leche que proceden o no de dietas donde las vacas consumieron pastos frescos. Sin embargo, la complejidad analítica para determinar el perfil graso y de antioxidantes de la leche, su coste y requerimientos de tiempo y mano de obra, sugiere la necesidad de explorar la utilidad de otros métodos más rápidos, menos costosos y más adaptados a las rutinas de los laboratorios de servicio interprofesionales como la espectroscopía de infrarrojo, trabajo que se propone para un desarrollo posterior.
- Se confirmó que un alto nivel de almidón en la dieta mejora la productividad animal y la producción de leche, mientras que una mayor proporción de pastos mejora la calidad de la grasa de la leche. Al nivel de mayor inclusión de concentrado ensayado (57%) y con un nivel de almidón de la ración del 26% no se observó efecto depresor del contenido graso de la leche.
- En base a los resultados se sugiere que, cuando las características estructurales de la explotación lo permitan, el pastoreo de la hierba conjuntamente con una adecuada suplementación energética de la dieta con raciones completas a base de ensilajes y un moderado nivel de concentrado permite compatibilizar un alto rendimiento lechero con una alta calidad de la grasa de la leche, rica en ácidos grasos y antioxidantes saludables.

BIBLIOGRAFÍA

- Abrahamse, P.A.; Vlaeminck, B.; Tamminga, S.; Dijkstra, J. (2008). The effect of silage and concentrate type on intake behavior, rumen function, and milk production in dairy cows in early and late lactation. *Journal of Dairy Science*, 91 (12), 4778-4792.
- AFRC. (1993). Energy and Protein Requirements of Ruminants. An advisory manual prepared by the AFRC Technical Committee on Responses to Nutrients.
- Agabriel, C.; Cornu, A.; Journal, C.; Sibra, C.; Grolier, P.; Martin, B. (2007). Tanker milk variability according to farm feeding practices: vitamins A and E, carotenoids, color, and terpenoids. *Journal of Dairy Science*, 90 (10), 4884-4896.
- Alezander, R.H.; McGowan, M. (1966). The routine determination of in vitro digestibility of organic matter in forages. *Journal of the British Grassland Society*, 21, 140-147.
- AOAC. (2003). Official Method of Analysis number 2003.06. Crude Fat in Feeds, Cereal Grains, and Forages. *Journal of AOAC International*, 86, 888-899.
- Arvidsson, K.; Gustavsson, A.M.; Martinsson, K. (2009a). Effects of conservation method on fatty acid composition of silage. *Animal Feed Science and Technology*, 148, 241-252.
- Arvidsson, K.; Gustavsson, A.M.; Martinsson, K. (2009b). Fatty acids in forages: A comparison of different pre-treatments prior to analysis. *Animal Feed Science and Technology*, 151, 143-152.
- Auldist, M.J.; Johnston, K.A.; White, N.J.; Fitzsimons, W.P.; Boland, M.J. (2004). A comparison of the composition, coagulation characteristics and cheese making capacity of milk from Friesian and Jersey dairy cows. *J. Dairy Res.*, 71, 51-57.
- Bainbridge, M.L.; Cersosimo, L.M.; Wright, A.D.G.; Kraft, J. (2016). Content and composition of branched-chain fatty acids in bovine milk are affected by lactation stage and breed of dairy cow. *PLoS ONE* 11(3):e0150386. doi:10.1371/journal.pone.0150386.
- Ballet, N.; Robert, J.C.; Williams, P.E.V. (2000). Vitamins in Forages. In: Givens, D.I., Owen, E., Axelford, R.F.E., Omed, H.M. (Eds.). *Forage Evaluation in Ruminant Nutrition*. CAB International Publishing, England, 399-431.
- Barbeyto F.; López-Garrido C. (2010). Resultados do programa de xestión de vacún de leite en Galiza en 2008. Xunta de Galicia.
- Barbeyto F.; López-Garrido, C. (2013). Resultados técnico-económicos das explotacións de vacún de leite en Galicia 2011. Xunta de Galicia.
- Barbeyto, F. (2003). El programa de gestión de vacuno de leche en Galicia: del manejo técnico a los resultados económicos. Seminario de la Asociación Española de Economía Agraria (AEEA- IDEGA).

- Barbeyto, F.; López-Garrido, C. (2009). Resultados do programa de xestión de vacún de leite en Galicia en 2007. Xunta de Galicia.
- Barbeyto, F.; López-Garrido, C. (2012) Resultados técnico-económicos das explotación de vacún de leite en Galicia 2010. Centro de Investigacións Agrarias de Mabegondo. Consellería do Medio Rural e do Mar. Xunta de Galicia.
- Bartsch, H.; Nair, J.; Owen, R.W. (1999). Dietary polyunsaturated fatty acids and cancers of the breast and colorectum: emerging evidence for their role as risk modifiers. *Carcinogenesis*, 20 (12), 2209-2218.
- Bastin, C.; Laloux, L.; Gillon, A.; Miglior, F.; Soyeurt, H.; Hammami, H.; Bertozzi, C.; Gengler, N. (2009). Modeling milk urea of Wallon dairy cows in management perspectives. *J Dairy Sci.*, 92, 3529-3540.
- Bauman, D.; Lock, A. (2015). Milk Fat and Human Health. Opportunities and Challenges. 2nd Joint Meeting ASAS-AAPA.
- Beauchemin, K.A.; Rode, L. (2012). Efficient Use of Forages and Impact on Cost of Production. *WCDS Adv. Dairy Technol.*, 24: 241-253.
- Beck, W.A.; Redman, R. (1940). Seasonal variations in the production of plant pigments. *Plant Physiology*, 15, 81-94.
- Bendich, A. (1993). Physiological role of antioxidants in the immune system. *J. Dairy Sci.*, 76, 2789-2794.
- Bergamo, P.; Fedele, E.; Iannibeli, L.; Marzillo, G. (2003). Fat soluble vitamin contents and fatty acid composition in organic and conventional Italian dairy products. *Food Chemistry*, 82, 625-631.
- Bermudez, B.; Ortega-Gomez, A.; Varela, LM.; Villar, J.; Abia, R.; Muriana, FJ.; Lopez, S. (2014). Clustering effects on postprandial insulin secretion and sensitivity in response to meals with different fatty acid compositions. *Food Funct.*, 5, 1374-80.
- Bloksma, J.; Adriaansen-Tennekes, R.; Machteld, H.; Lucy, P.L.; Vijver, D.V.; Baars, T.; Wit, D.J. (2008). Comparison of Organic and Conventional Raw Milk Quality in the Netherlands. *Biological Agriculture and Horticulture*, 26, 69-83.
- BOE (Boletín Oficial del Estado). (2007). Reglamento (CE) nº 834/2007 del Consejo, de 28 de junio de 2007, sobre producción y etiquetado de los productos ecológicos y por el que se deroga el Reglamento (CEE) nº 2092/91.
- Botana, A.; González, L.; Dagnac, T.; Resch-Zafra, C.; Pereira-Crespo, S.; Veiga, M.; Lorenzana, R.; Fernández-Lorenzo, B.; Flores-Calvete, G. (2018a). Fatty acids and liposoluble antioxidants in milk from dairy farms in the Atlantic area of Spain. Proceedings of 27th European Grassland Federation General Meeting. Sustainable Meat and Milk Production from Grasslands, 712-714.

- Botana, A.; González, L.; Dagnac, T.; Resch, C.; Pereira-Crespo, S.; Fernández-Lorenzo, B.; Lorenzana, R.; Veiga, M.; Lema, I.; Flores-Calvete, G. (2017). Calidad de la leche de vaca en una muestra de explotaciones ecológicas y convencionales de Galicia: I- Composición fisicoquímica. *Actas de XVII Jornadas sobre Producción Animal*, 663-665.
- Botana, A.; González, L.; Pereira-Crespo, S.; Resch, C.; Lorenzana, R.; Veiga, M.; Flores-Calvete, G. (2018b). Contribución a la autenticación de muestras de leche de vacas en pastoreo a partir de su composición de ácidos grasos. *Pastoralismo y vías pecuarias. Conectando tradición e innovación. Actas de la 57ª Reunión científica de la Sociedad Española de Pastos*, 40-49.
- Bradbury, K.E.; Skeaff, C.M.; Green, T.J.; Gray, A.R.; Crowe, F.L. (2010). The serum fatty acids myristic acid and linoleic acid are better predictors of serum cholesterol concentrations when measured as molecular percentages rather than as absolute concentrations. *American Journal of Clinical Nutrition*, 91, 398-405.
- Britton, G. (1995). Example 1: Higher plants. Britton G, Liaaen-Jensen S, Pfander H (eds) *Carotenoids 1A*. Birkhäuser, Basel, 201– 214.
- Brown, F. (1953). The tocopherol content of farm feedingstuffs. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 4, 161–165.
- Burow, E.; Rousing, T.; Thomsen, P.; Otten, N.; Sørensen, J. (2013). Effect of grazing on the cow welfare of dairy herds evaluated by a multidimensional welfare index. *Animal*, 7, 834-842.
- Butler, G.; Nielsen, J.H.; Slots, T.; Seal, C.; Eyre, M.D.; Sanderson, R.; Leifert, C. (2008). Fatty acid and fat-soluble antioxidant concentrations in milk from high- and low-input conventional and organic systems: seasonal variation. *J Sci Food Agric.*, 88, 1431-1441.
- Butler, G.; Stergiadis, S.; Seal, C.; Eyre, M.; Leifert, C. (2011). Fat composition of organic and conventional retail milk in northeast England. *J. Dairy Sci.*, 94, 24–36.
- Calderón, F.; Chauveau-Duriot, B.; Martin, B.; Graulet, B.; Doreau, M.; Nozière, P. (2007). Variations in carotenoids, vitamins A and E, and color index in cow's plasma and milk during late pregnancy and the first three months of lactation. *J. Dairy Sci.*, 90, 2335-2346.
- Calderón, F.; Chauveau-Duriot, B.; Pradel, P.; Martin, B.; Graulet, B.; Doreau, M.; Nozière, P. (2007). Variations in Carotenoids, Vitamins A and E, and color in cow's plasma and milk following a shift from hay diet to diets containing increasing levels of carotenoids and Vitamin E. *J. Dairy Sci.*, 90, 5651–5664.
- Cardinault, N.; Lyan, B.; Doreau, M.; Chauveau, B.; Rock, E.; Grolier, P. (2008). Development of a method to determine carotenoid composition of fresh forages. *Can. J. Plant Sci.*, 88, 1057-1064.

- Carter, W.R.B. (1960). A review of nutrient losses and efficiency of conserving herbage as silage, barn-dried hay and field-cured hay. *Journal of British Grassland Society*, 15, 220–230.
- Castro-Insua, J. (2010). Abonado de cultivos forrajeros con purines. *Frisona Española*, 175, 88-90.
- Castro, P. (1996). Efecto de tres temperaturas de secado sobre la composición química de forrajes y heces. *Actas de la XXXVI Reunión Científica de la SEEP*, 365-368.
- Castro, P. (2000). Determinación de carbohidratos no estructurales en forrajes. *Consellería de Agricultura, Gandería e Política Agroalimentaria* (Ed). *Actas de la III Reunión Ibérica de Pastos y Forrajes*, 447-453.
- Castro, P.; González-Quintela, A.; Prada-Rodríguez, D. (1990). Determinación simultánea de nitrógeno y fósforo en muestras de pradera. *Pastos* (Ed). *Actas de la XXX Reunión Científica de la SEEP*, 200-207.
- Chauveau-Duriot, B.; Doreau, M.; Nozière, P.; Graulet, B. (2010). Simultaneous quantification of carotenoids, retinol, and tocopherols in forages, bovine plasma, and milk: validation of a novel UPLC method. *Anal Bioanal Chem*, 397, 777–790.
- Chauveau-Duriot, B.; Thomas, D.; Portelli, J.; Doreau, M. (2005). Effet du mode de conservation sur la teneur en caroténoïdes des forrages. *Renc. Rech. Ruminants*, 12, 117.
- Chilliard, Y.; Ferlay, A.; Doreau, M. (2001). Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids. *Livest. Prod. Sci.*, 70, 31–48.
- Chilliard, Y.; Ferlay, A.; Mansbridge, R.M.; Doreau, M. (2000). Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids. *Annals of Zootechnology*, 49, 181–205.
- Chilliard, Y.; Glasser, F.; Ferlay, A.; Bernard, L.; Rouel, J.; Doreau, M. (2007). Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 109, 828-855.
- Chow, T.T.; Fievez, V.; Ensberg, M.; Elgersma, A.; De Smet, S. (2004). Fatty acid content, composition and lipolysis during wilting and ensiling of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.): preliminary findings. In: Lüscher, A., Jeangros, B., Kessler, W., Huguenin, O., Lobsiger, M., Millar, N., Suter, D. (Eds.). *Grassland Science in Europe*, 9, 981–983.
- Clemson University (1996). Formulas for Feed and Forage Analysis Calculations. Agricultural Service Laboratory.
http://www.clemson.edu/public/regulatory/ag_svc_lab/feed_and_forage/calculations.txt

- Coleman, D.; Berry, D.P.; Pierce, K.M.; Brennan, A.; Horan B. (2010). Dry matter intake and feed efficiency profiles of 3 genotypes of Holstein-Friesian within pasture-based systems of milk production. *Journal of Dairy Science*, 93 (9), 4318-4331.
- Conant, R.T.; Cerri, C.E.P.; Osborne, B.B.; Paustianm, K. (2017). Grassland management impacts on soil carbon stocks: a new synthesis. *Ecological Applications*, 27, 662-668.
- Consellaría do Medio Rural. (2014). Guía de Boas Prácticas Agrícolas, Gandeiras e Forestais. Xunta de Galicia.
- Coppa, M.; Ferlay, A.; Monsallier, F.; Verdier-Metz, I.; Pradel, P.; Didienne, R.; Farruggia, A.; Montel, M.C.; Martin, B. (2011). Milk fatty acid composition and cheese texture and appearance from cows fed hay or different grazing systems on upland pastures. *J. Dairy Sci.*, 94, 1132-1145.
- Coppa, M.; Martin, B.; Agabriel, C.; Chassaing, C.; Sibra, C.; Constant, I.; Graulet, B.; Andueza, B. (2012). Authentication of cow feeding and geographic origin on milk using visible and near-infrared spectroscopy. *J. Dairy Sci.* 95, 5544–5551.
- Couvreur, S.; Hurtaud, C.; Lopez, C.; Delaby, L.; Peyraud, J.L. (2006). The linear relationship between the proportion of fresh grass in the cow diet and milk fat characteristics and butter properties. *Journal of Dairy Science*, 89, 1956–1969.
- Danielsson, H.; Nadeau, E.; Gustavsson, A.M.; Jensen, S.K.; Soegaard, K.; Nilsson-Linden, N. (2008). Contents of α -tocopherol and β -carotene in grasses and legumes harvested at different maturities. *Grassland Science in Europe*, 13, 432–434.
- De Blas Beorlegui, C. (2004). Cambios en el perfil de ácidos grasos en productos animales en relación con la alimentación animal y humana. Importancia del ácido linoleico conjugado. 1. Rumiantes. Avances en nutrición y alimentación animal. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal, 79-100.
- De Ondarza, M.B.; Tricarico, J.M. (2017). Review: Advantages and limitations of dairy efficiency measures and the effects of nutrition and feeding management interventions. *The Professional Animal Scientist*, 33, 393-400.
- Dewhurst, R.J.; Scollan, N.D.; Lee, M.R.F.; Ougham, H.J.; Humphreys, M.O. (2003c). Forage breeding and management to increase the beneficial fatty acid content of ruminant products. *Proceeding of the Nutrition Society*, 62, 329–336.
- Dewhurst, R.J.; Shingfield, K.J.; Lee, M.R.F., Scollan, N.D. (2006). Increasing the concentrations of beneficial polyunsaturated fatty acids in milk produced by dairy cows in high-forage systems. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 131, 168–206.
- Dhiman, T.R.; Nam, S.H.; Ure, A.L. (2005). Factors affecting Conjugated Linoleic Acid content in Milk and Meat. *Crit Rev Food Sci.*, 45, 463-482.
- Domínguez, S. (2017). Eficiencia económica en la alimentación de explotaciones de leche de la Cornisa Cantábrica. Tesis final de Master en Ingeniería Agronómica. USC, Escuela Politécnica Superior de Lugo.

- Doreau, M.; Poncet, C. (2000). Ruminant biohydrogenation of fatty acids originating from fresh or preserved grass. *Reproduction Nutrition Development*, 40, 201-211.
- Edmonson, A.J.; Lean, I.J.; Weaver, L.D.; Farver, T.; Webster, G. (1989). A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 72, 68-78.
- Elgersma, A. (2015). Grazing increases the unsaturated fatty acid concentration of milk from grass-fed cows: A review of the contributing factors, challenges and future perspectives. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 117, 1345–1369.
- Elgersma, A.; Tammiga, S.; Ellen, G. (2006). Modifying milk composition through forage. *Animal Feed Science and Technology*, 131, 207–225.
- Elgersma, A.; Wever, A.C.; Nalecz-Tarwacka, T. (2006). Grazing versus indoor feeding: effects on milk quality. *Grassl. Sci. Eur.*, 11, 419-427.
- Ellis, K.A.; Innocent G.; Grove-White, D.; Cripps, P.; McLean, W.G.; Howard, C.V. (2006). Comparing the fatty acid composition of organic and conventional milk. *Journal of Dairy Science*, 89, 1938-50.
- Ellis, K.A.; Monteiro, A.; Innocent, G.T.; Grove-White, D.; Cripps, P.; Graham McLean, V.; Howard, C.V.; Mihm, H. (2007). Investigation of the vitamins A and E and β -carotene content in milk from UK organic and conventional dairy farms. *J. Dairy Res.*, 74, 484–491.
- Elwood, P. (2009). How does eating dairy products impact health in the long run?. International Conference on Saturated Fat. European Dairy Association.
- Elwood, P.C.; Pickering, J.E.; Givens, D.I.; Gallacher, J.E. (2010). The consumption of milk and dairy foods and the incidence of vascular disease and diabetes: an overview of the evidence. *Lipids*, 45, 925-939.
- Engel, E.; Ferlay, A.; Cornu, A.; Chilliard, Y.; Agabriel, C.; Bielicki, G.; Martin, B. (2007). Relevance of Isotopic and Molecular Biomarkers for the Authentication of Milk According to Production Zone and Type of Feeding of the Cow. *J. Agric. Food Chem.*, 55(22), 9099–9108.
- European Commission. (2017). Medium-term prospects for the EU agricultural markets and income 2018-2030. Agriculture and Rural Development (https://ec.europa.eu/agriculture/markets-and-prices/medium-term-outlook_en).
- European Commission. (2018). Directorate General for agriculture and Rural Development. EU Dairy Farms Report based on 2016 FADN data. https://ec.europa.eu/agriculture/sites/agriculture/files/fadn/documents/dairy-report-2016_en.pdf
- Eurostat. (2019). http://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php/Milk_and_milk_product_statistics
- Fall, N.; Emanuelson, U. (2011). Fatty acid content, vitamins and selenium in bulk tank milk from organic and conventional Swedish dairy herds during the indoor season. *Journal of Dairy Research*, 78 (3), 287-292.

- FEGA (2019). Declaraciones obligatorias del sector vacuno de leche. Diciembre 2018. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Secretaría General Técnica. https://www.fega.es/sites/default/files/Fega_Declarac_Lacteo_Vacuno_2018_12.pdf?token=SNb9b53B
- Ferlay, A.; Agabriel, C.; Sibra, C.; Journal, C.; Martin, B.; Chilliard, Y. (2008). Tanker milk variability in fatty acids according to farm feeding and husbandry practices in a French semi-mountain area. *Dairy Science and Technology*, 88, 193-215.
- Ferlay, A.; Graulet, B.; Chilliard, Y. (2013). Maîtrise par l'alimentation des teneurs en acides gras et en composés vitaminiques du lait de vache. *Prod. Anim.*, 26 (2), 177-192.
- Ferlay, A.; Martin, B.; Pradel, P.; Coulon, J.B.; Chilliard, Y. (2006). Influence of grass-based diets on milk fatty acid composition and milk lipolytic system in Tarentaise and Montbéliarde cow breeds. *J. Dairy Sci.*, 89, 4026–4041.
- Fernández-Lorenzo, B.; Dagnac, T.; González-Arráez, A.; Valladeres, J.; Perira-Crespo, S.; Flores, G. (2009). Sistemas de producción de leche en Galicia: Evolución y situación actual. *Pastos*, 34 (2), 251-299.
- Ferrer, C.; San Miguel, A.; Olea, L. (2001). Nomenclátor básico de pastos en España. *Pastos*, 29 (2), 7-44.
- Ferris, C.P.; Gordon, F.J.; Patterson, D. C.; Murphy, J. (2002). A three year comparison of four contrasting grassland based systems of milk production. In Profitable grass and forage: meeting the needs of the farmer and society. *Proc. Br. Grassld. Soc. Winter Meet.* 2002, Stafford, UK.
- FiBL & IFOAM. (2015). The World of Organic Agriculture. Statistics and emerging trends. Frick and Bonn.
- Fleming, J.; Kris-Etherton, P. The evidence for α -linolenic acid and cardiovascular disease benefits: Comparisons with eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid. *Adv.Nutr.*, 5 (6), 863S–876S.
- Flores-Calvete, G.; Martínez-Fernández, A.; Doltra, J.; García, A.; Eguinoa, P. (2017). Encuesta sobre estructura y sistemas de alimentación de las explotaciones lecheras de Galicia, Cornisa Cantábrica y Navarra. Informe del Proyecto INIA-RTA2012-00065-C05. <http://ciam.gal/pdf/informeinia.pdf>
- Flores, G. (2004). Factores que afectan a la calidad del ensilaje de hierba y a la planta de maíz forrajero en Galicia y evaluación de métodos de laboratorio para la predicción de la digestibilidad in vivo de la materia orgánica de estos forrajes ensilados. Tesis Doctoral. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos de Madrid.
- Flores, G.; Amor, J.; Resch, C. (2003). Valor nutritivo del ensilaje de hierba en las explotaciones ganaderas gallegas. *Pastos*, 30 (2), 149-191.
- Flores, G.; Díaz, N.; Díaz, D.; Valladares, J.; Pereira-crespo, S.; Fernández-Lorenzo, B.; Resch, C.; Rodríguez-Diz, X.; Piñeiro, J. (2013). Evaluación de cultivares de raigrás

italiano e híbrido como cultivo de invierno para ensilar en primavera. *Pastos*, 43(1), 20-34.

Flores, G.; López-Garrido, C.; Beceiro, U.; Ribas, A. (2003). Concentração parcelária e estrutura das explorações leiteiras de Galiza. *Cadernos da Area de Ciencias Agrarias*, Seminario de Estudos Galegos, 16, 83-118.

Flores, G.; Resch, C.; Dagnac, T.; Pereira-Crespo, S.; Lorenzana, R.; González, L.; Agraña M.J.; Barreal, M.L.; Veiga, M.; Botana, A. (2016). Dietas típicas y calidad de la leche en explotaciones lecheras gallegas. *Actas del XXI Congreso ANEMBE de Medicina Bovina*, 239-240.

Focant, M.; Mignolet, E.; Marique, M.; Clabots, F.; Breyne, T.; Dalemans, D.; Larondelle, Y. (1998). The effect of vitamin E supplementation of cow diets containing rapeseed and linseed on the prevention of milk fat oxidation. *Journal of Dairy Science*, 81 (4), 1095–1101.

Gentili, A.; Caretti, F.; Bellante, S.; Ventura, S.; Canepari, S.; Curini, P. (2013). Comprehensive profiling of carotenoids and fat soluble vitamins in milk from different animal species by LC-DAD-MS/MS hyphenation. *J. Agric. Food Chem.*, 61, 1628-1639.

Givens, D.I. (2010). Milk and meat in our diet: Good or bad for health? *Animal*, 4 (12), 1941-1952.

Givens, D.I.; Rulquin, H. (2004). Utilisation by ruminants of nitrogen compounds in silage-based diets. *Animal Feed Science and Technology*, 114, 1–18.

Givens, D.I.; Shingfield, K.J. (2006). Optimising dairy milk fatty acid composition. Williams, C. M., Buttriss, J. (Eds). *Improving the fat content of foods*. Cambridge, Inglaterra: Woodhead Publishing Ltd, 252-280.

Goering, H.K.; Van Soest, P.J. (1970). Forage Fiber Analysis (Apparatus Reagents, Procedures and Some Applications). *Agriculture Handbook*. United States Department of Agriculture, Washington DC., 379, 20.

Gordon, F.J.; Ferris, C.P.; Patterson, D.C.; Mayne, C.S. (2000). A comparison of two grassland-based systems for autumn calving dairy cows of high genetic merit. *Grass For. Sci.*, 55, 83–96.

Granelli, K.; Barrefors, P.; Bjoerck, L.; Appelqvist, L.A. (1998). Further studies on lipid composition of bovine milk in relation to spontaneous oxidised flavour. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77 (2), 161–171.

Harfoot, C.G.; Hazelwood, G.P. (1988). Lipid metabolism in the rumen. *The Rumen Microbial Ecosystem*, Hobson P. N. (Ed). Londres, Elsevier Science, 285–322.

Hart, K.J.; Huntington, J.A.; Wilkinson, R.G.; Bartram, C.G.; Sinclair, L.A. (2015). The influence of grass silage-to-maize silage ratio and concentrate composition on methane emissions, performance and milk composition of dairy cows. *Animal*, 9 (6), 983-991.

- Haug, A.; Høstmark, A.T.; Harstad, O.M. (2007). Bovine milk in human nutrition—a review. *Lipids in health and disease*, 6, 1-16.
- Havemose, M.S.; Weisbjerg, M.R.; Bredie, W.L.P.; Nielsen, J.H. (2004). Influence of feeding different types of roughage on the oxidative stability of milk. *International Dairy Journal*, 14, 563-570.
- Havemose, M.S.; Weisbjerg, M.R.; Bredie, W.L.P.; Poulsen, H.D.; Nielsen, J.H. (2006). Oxidative stability of milk influenced by fatty acids, antioxidants and copper derived from feed. *J. Dairy Sci.*, 89, 1970-1980.
- Hogdson, J.M.; Wahlqvist, M.L.; Boxall, J.A.; Balazs, N.D. (1996). Platelet trans-fatty acids in relation to angiographically assessed coronary artery disease. *Atherosclerosis*, 120, 147-154.
- Höjer, A.; Adler, S.; Martinsson, K.; Jensen, S.K.; Steinshamm, H.; Thuen, E. (2012). Effect of legume-grass silages and α -tocopherol supplementation on fatty acid composition and α -tocopherol, β -carotene and retinol concentrations in organically produced bovine milk. *Livestock Science*, 148, 268-281.
- Hözer, B.; Avni-Kirmaci, H. (2010). Functional milks and dairy beverages. *International Journal of Dairy Technology*, 63 (1), 1-15.
- Hutjens, M. (2008). Building on Milk Protein. Book of Four-State Dairy Nutrition and Management Conference, 103-105.
- Hutjens, M.F. (2005). Dairy efficiency and dry matter intake. Proc. West. Dairy Manage. Conf., Reno, NV. Kansas State Univ., Manhattan, 71-76.
- Huyghe, C.; De Vliegher, A.; Van Gils, B.; Peeters, A. (2014). Grasslands and herbivore production in Europe and effects of common policies. Paris, Francia: Quae Éditions.
- INE. (2009). Censo Agrario 2009. https://www.ine.es/daco/daco42/agricultura/meto_censoag09.pdf
- Informes climatológicos estacionales de Meteogalicia. Consellería de Medio Ambiente. Xunta de Galicia <https://www.meteogalicia.gal/observacion/informesclima/informesIndex.action>
- INLAC. (2016). El sector lácteo en España. Datos de producción, industria y consumo (2008-2015). http://www.inlac.es/sector_produccion.php#
- ISO. (2001). Milk and milk products. Extraction methods for lipids and liposoluble compounds. ISO 14156:2001/IDF 172. Ginebra, Suiza: International Organization for Standardization.
- ISO. (2002). Milk fat. Preparation of fatty acid methyl esters. ISO 15884:2002/IDF 182. Ginebra, Suiza: International Organization for Standardization.
- Isselstein, J.; Jeangros, B.; Pavlů, V. (2005). Agronomic aspects of biodiversity targeted management of temperate grasslands in Europe. A review. *Agronomy Research*, 3, 139-151.

- Jensen, S.K.; Johannsen, A.K.B.; Hermansen, J.E. (1999). Quantitative secretion and maximal secretion capacity of retinol, beta-carotene and alpha-tocopherol into cows' milk. *Journal of Dairy Research*, 66, 511–522.
- Kalač, P. (1983). Losses of beta-carotene in unwilted forage crops during silage-making and feeding. *Animal Feed Science and Technology*, 9, 63–69.
- Kalač, P.; McDonald, P. (1981). A review of the changes in carotenes during ensiling of forages. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 32, 767–772.
- Kalač, P.; Samková, E. (2010). The effects of feeding various forages on fatty acid composition of bovine milk fat: A review. *Czech J. Anim. Sci.*, 55 (12), 521–537.
- Kelsey, J.A.; Corl, B.A.; Collier, R.J.; Bauman, D.E. (2003). The effect of breed, parity, and stage of lactation on conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat from dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 86, 2588–2597.
- Khan, N.A.; Cone, J.W.; Fievez, V.; Hendriks, W.H. (2012). Causes of variation in fatty acid content and composition in grass and maize silages. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 174 (1-2), 36–45.
- Khan, N.A.; Cone, J.W.; Pellikaan, W.F.; Khan, M.A.; Struik, P.C.; Hendriks, W.H. (2011). Changes in fatty acid content and composition in silage maize during grain filling. *J. Sci. Food Agric.*, 91 (6), 1041–1049.
- Khan, N.A.; Tewoldebrihan, T.A.; Zom, R.L.G.; Cone, J.W.; Hendriks, W.H. (2012). Effect of corn silage harvest maturity and concentrate type on milk fatty acid composition of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 95, 1472–1483.
- Khan, N.A.; Yu, P.; Ali, M.; Cone, J.W.; Hendriks, W.H. (2015). Nutritive value of maize silage in relation to dairy cow performance and milk quality. *J. Sci. Food Agric.*, 95 (2), 238–252.
- Khanal, R.C.; Dhiman, T. R.; Ure, A.L.; Brennand, C.P.; Boman, R.L.; McMahon, D. J. (2005). Consumer Acceptability of Conjugated Linoleic Acid-Enriched Milk and Cheddar Cheese from Cows Grazing on Pasture. *J. Dairy Sci.*, 88 (5), 1837–1847.
- Khiaosa-Ard, R.; Kreuzer, M.; Leiber F. (2015). Apparent recovery of C18 polyunsaturated fatty acids from feed in cow milk: A meta-analysis of the importance of dietary fatty acids and feeding regimens in diets without fat supplementation. *J. Dairy Sci.*, 98 (9), 6399–6414.
- Kliem, K.E.; Morgan, R.; Humphries, D.J.; Shingfield, K.J.; Givens, D.I. (2008). Effect of replacing grass silage with maize silage in the diet on bovine milk fatty acid composition. *Animal*, 2, 1850–1858.
- Kramer, J.K.G.; Blackadar, C.B.; Zhou, J. (2002). Evaluation of Two GC Columns (60-m SUPELCOWAX 10 and 100-m CP Sil 88) for Analysis of Milkfat with Emphasis on CLA, 18:1, 18:2 and 18:3 Isomers, and Short- and Long-Chain FA. *Lipids*, 37 (8), 823–835.

Krettek, A.; Thorpenberg, S.; Bondjers, G. (2008). Trans fatty acids and health: a review of health hazards and existing legislation. Policy department economic and scientific policy. European Parliament.

La Terra, S.; Marino, V.M.; Manenti, M.; Licitra, G.; Carpino, S. (2010). Increasing pasture intakes enhances polyunsaturated fatty acids and lipophilic antioxidants in plasma and milk of dairy cows fed total mix ration. *Dairy Science and Technology*, 90 (6), 687–698.

Lee, J.; Seo, J.; Lee, S.Y.; Ki, K.S.; Seo, S. (2014). Meta-analysis of factors affecting milk component yields in dairy cattle. *Journal of Animal Science and Technology*, 56, 5.

Leiber, F.; Scheeder, M.R.L.; Wettstein, H.R.; Kreuzer, M. (2004). Milk fatty acid profile of cows under the influence of alpine hypoxia and high mountainous forage quality. *J. Anim. Feed Sci.*, 13 (1), 693–696.

LIGAL (a) <http://www.ligal.es/es-es/Analisis/AlimentosDestinadosAlimentacionAnimal/Paginas/default.aspx>

LIGAL (b) <http://www.ligal.es/es-es/Analisis/InstrumentalLecheCrudaVaca/Paginas/default.aspx>

Lindmark-Månsson, H.; Fondén, R.; Pettersson, H.E. (2003). Composition of Swedish dairy milk. *Int. Dairy J.*, 13 (6), 409–425.

Lindqvist, H.; Nadeau, E.; Jensen, S.K. (2011). Alpha-tocopherol and β -carotene in legume–grass mixtures as influenced by wilting, ensiling and type of silage additive. *Grass and Forage Science*, 67 (1), 119–128.

Little, S. (2015). Feed Conversion Efficiency. A key measure of feeding system performance on your farm. Grains2Milk <https://www.dairyaustralia.com.au/-/media/dairyaustralia/documents/farm/pasture-management/nutrition/feed-conversion-efficiency/feed-conversion-efficiency.pdf?la=en&hash=18A2DFF6DF7A027C0419B2BC8A93E893399FF6EE>

Lloveras-Vilamanya, J. (1987). Forage production and quality of several crop rotations and pastures in northwestern Spain. *Grass and Forage Science*, 42 (3), 241–247.

López-Iglesias, E. (2002). A vixencia das políticas de reforma das estruturas agrarias: Reflexions para o caso galego. *Cooperación Galega*, 57.

López-Iglesias, E. (2015). O complexo lácteo galego nun mercado liberalizado. Estratexias e políticas ante a desaparición do sistema de cotas na UE. Foro económico de Galicia, Documento 13/2015.

López-Iglesias, E.; Sineiro-García, F.; Lorenzana, R. (2013). Processes of farmland abandonment: land use change and structural adjustment in Galicia (Spain). *Research in rural sociology and development*, 19, 91–120.

Lorenzana-Fernández, R.; Flores-Calvete, G.; Barreal-López, M.L. (2017). Contenido graso y proteico de la leche de vacuno y estacionalidad en su producción. *Afriga*, 130, 71–86.

- Lorenzana, R.; Flores, G.; Barreal, M.L. (2018). A produción de sólidos en Galicia e a súa estacionalidade . *Vaca Pinta*, 5, 66-72.
- Luykx, D.; Ruth, S. (2008). An overview of analytical methods for determining the geographical origin of food products. *Food Chemistry*, 107 (2), 897-911.
- Lynch, A.; Kerry, J.P.; Buckley, D.J.; Morrissey, P.A.; López-Bote, C. (2001). Use of high pressure liquid chromatography (HPLC) for the determination of alpha-tocopherol levels in forage (silage/ grass) samples collected from different regions in Ireland. *Food Chemistry*, 72, 521–524.
- Machlin, L.J. (1984). Vitamin E. In: Machlin L.J. (ed.) *Handbook of Vitamins: Nutritional, Biochemical and Clinical Aspects*. M. Dekker, New York and Basel, 99–145.
- MacLean, C.H.; Mojica, W.A.; Morton, S.C.; Pencharz, J.; Hasenfeld-Garland, R.; Tu, W.; Newberry, S.J.; Jungvig, L.K.; Grossman, J.; Khanna, P.; Rhodes, S.; Shekelle, P. (2004). Effects of omega-3 fatty acids on lipids and glycemic control in type II diabetes and the metabolic syndrome and on inflammatory bowel disease, rheumatoid arthritis, renal disease, systemic lupus erythematosus and osteoporosis. *Evidence Report/Technology Assessment (summary)*, 89, 1-4.
- MAPAMA. (2007). *Hacia donde camina la Alimentación: Tendencias de Consumo y Comercialización 2. El Consumo de Productos Ecológicos*. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente.
- MAPAMA. (2019). *Agricultura Ecológica. Estadísticas 2018*. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente.
- Martin, B.; Fedele, V.; Ferlay, A.; Grolier, P.; Rock, E.; Gruffat, D.; Chilliard, Y. (2004). Effects of grass-based diets on the content of micronutrients and fatty acids in bovine and caprine dairy products. *Grassland Sci. Eur.* 9, 876–886.
- Martin, B.; Cornu, A.; Kondjoyan, N.; Ferlay, A.; Verdier-Metz, I.; Pradel, P.; Rock, E.; Chilliard, Y.; Coulon, J. B.; Berdagué, J. L. (2005). Milk indicators for recognizing the types of forages eaten by dairy cows. *Indicators of Milk and Beef Quality*, 127–136.
- Martin, B.; Hurtaud, C.; Graulet, B.; Ferlay, A.; Chilliard, Y.; Coulon, J.B. (2009). Herbe et qualités nutritionnelles et organoleptiques des produits laitiers. *Fourrages*, 199, 291-310.
- Matthew, C.; Hernández-Garay, A.; Hodgson, J. (1996). Making sense of the link between tiller density and pasture production. *Proceedings of the New Zealand Grassland Association*, 57, 83-87.
- Mc Grath, D. (1991) Grass as a Source of Fermentable Carbohydrate for Ethanol Production. *Irish Journal of Agricultural Research*, 30 (2), 121-128.
- McDowell, L.R. (1989). *Vitamins in Animal Nutrition: Comparative Aspects to Human Nutrition*. Academic Press, San Diego, California.

- Meixide, A.; Ares, J.J.; Bande, R.; Blanco, A. (2016). A economía galega. Informe 2015. Afundación-Obra Social ABANCA.
- Mensink, R.P.; Zock, P.L.; Kester, A.D.; Katan, M.B. (2003). Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. *Am. J. Clin. Nutr.* 77 (5), 1146-1155.
- Mogensen, L.; Kristensen, T.; Søgaard, K.; Jensen, S.; Sehested, J. (2012). Alfa-tocopherol and beta-carotene in roughages and milk in organic dairy herds. *Livestock Science*, 145, 44-54.
- Moloney, A.P.; Monahan, F.J.; Schmidt, O. (2014). Quality and authenticity of grassland products. *Grassland Science in Europe*, 19, 509-520.
- Morales, M.S.; Palmquist, D.L.; Weiss, W.P. (2000). Milk fat composition of Holstein and Jersey cows with control or depleted copper status and fed whole soyabeans or tallow. *J. Dairy Sci.*, 83 (9), 2112–2119.
- Nantapo, C.T.; Muchenje, V.; Hugo, A. (2014). Atherogenicity index and health-related fatty acids in different stages of lactation from Friesian, Jersey and Friesian×Jersey cross cow milk under a pasture-based dairy system. *Food Chem.*, 146, 127-133.
- Nielsen, T.S.; Straarup, E.M.; Vestergaard, M.; Sejrsen, K. (2006). Effect of silage type and concentrate level on conjugated linoleic acids, trans -C18:1 isomers and fat content in milk from dairy cows. *Reproduction, Nutrition, Development*, 46 (6), 699–712.
- Nozière, P.; Grolier, P.; Durand, D.; Ferlay, A.; Pradel, P.; Martin, B. (2006). Variations in Carotenoids, Fat-Soluble Micronutrients, and Color in Cows' Plasma and Milk Following Changes in Forage and Feeding Level. *J. Dairy Sci.*, 89 (7), 2634–2648.
- NRC (2001). National Research Council. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle: Seventh Revised Edition, Natl. Acad. Sci. (Washington DC).
- O'Donnell, A.M.; Spatny, K.P.; Vicini, J.L.; Bauman, D.E. (2010). Survey of the fatty acid composition of retail milk differing in label claims based on production management practices. *Journal of Dairy Science*, 93 (5), 1918–1925.
- Olsson, N.; Åkerberg, E.; Blixt, B. (1955). Investigations concerning formation, preservation and utilization of carotene. *Acta Agriculturae Scandinavica*, 5, 113–184.
- Paccard P., Chenais F., Brunschwig P. (2006). Maîtrise de la matière grasse du lait para l'alimentation des vaches laitières. Institute de L'Élevage. Collection resultats. 36 pp
- Pariza, M.W. (1999). The biological activities of conjugated linoleic acid, in *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*, Volume 1, Yurawecz, M.P., Mossoba, M.M., Kramer, J.K.G., Pariza, M.W., and Nelson G.J. eds), 12-20, AOCS Press, Champaign.
- Park, Y.W.; Anderson, M.J.; Walters, J.L.; Mahoney, A.W. (1983). Effects of processing methods and agronomic variables on carotene contents in forages and

- predicting carotene in alfalfa hay with near-infrared-reflectance spectroscopy. *Journal of Dairy Science*, 66 (2), 235–245.
- Parodi, P.W. (1997). Cows' milk fat components as potential anticarcinogenic agents. *J. Nutr.*, 127(6), 1055-1060.
- Prache, S.; Priolo, A.; Grolier, P. (2003). Persistence of carotenoid pigments in the blood of concentrate-finished grazing sheep: Its significance for the traceability of grass-feeding. *J. Anim. Sci.*, 81, 360-367.
- Pentelescu, N.O. (2009). Fatty acid, retinol and carotene content of organic milk. *Animal Biology & Animal Husbandry Int. J. Bioflux Soc.*, 1 (1), 21-26.
- Pereira-Crespo S., Lorenzana R., Barreal M. Rodríguez M., Flores-Calvete G. (2016). Calidad de los ensilados de hierba y de maíz en las explotaciones lecheras gallegas. Innovación sostenible en pastos: Hacia una Agricultura de Respuesta al Cambio Climático. Sociedad Española para el Estudio de los Pastos . M.D. Báez (Eds), 105-110.
- Pereira-Crespo, S.; Fernández-Lorenzo, B.; Resch-Zafra, C.; Valladares-Alonso, J.; González, L.; Dagnac, T.; Botana, A.; Flores-Calvete, G. (2015). Predicción de la calidad fermentativa de ensilados de hierba mediante NIRS sobre muestras secas y molidas. Actas de la LIV Reunión Científica de la SEEP. Pastos y Forrajes en el siglo XXI, 169-176.
- Pereira-Crespo, S.; Flores-Calvete, G. (2015). Informe final do proxecto FEADER 2013/22 Aplicacións analíticas avanzadas en forraxes para racións de vacas de leite de baixo custo e reducido impacto ambiental (A3F). Xunta de Galicia.
- Pereira-Crespo, S.; Flores-Calvete, G.; Valladares-Alonso, J.; Díaz-Díaz, N.; Díaz-Díaz, D.; Resch-Zafra, C.; Fernández-Lorenzo, B.; Latorre, A.; González, L.; Dagnac, T. (2014). Prediction of fatty acids composition of annual forage clovers and serradella by near infrared spectroscopy. *Options méditerranéennes. Series A*, 109, 375-378.
- Pereira-Crespo, S.; Flores, G.; Resch C.; Dagnac, T. (2014). Dietas típicas e calidade do leite nas explotacións galegas de vacún. Actas Xornadas de Gandería Ecolóxica, 21. Facultade de Veterinaria da USC.
- Pereira-Crespo, S.; González, L.; Botana, A.; Veiga, M.; Resch, C.; Lorenzana, R.; Núñez-Sánchez, N.; Flores-Calvete, G. (2018). Predicción del perfil de ácidos grasos y autenticación del origen alimentario de la leche de vaca mediante NIRS. En: Pastoralismo y vías pecuarias. Conectando tradición e innovación. Actas 57ª Reunión científica de la Sociedad Española de Pastos. S. Roig y O. Barrantes (Eds), 50-59.
- Pereira-Crespo, S.; Valladares, J.; Flores, G.; Fernández-Lorenzo, B.; Resch, C.; Piñeiro, J.; Díaz, N.; González-Arráez, A.; Bande-Castro, M.J.; Rodríguez-Diz, X. (2012). Prediction of the nutritive value of annual forage clovers and serradella by near infrared spectroscopy (NIRS). *Options méditerranéennes. Series A*, 102, 241-244.
- Piñeiro, J. (1994). Praderas sembradas en Galicia: especies que las componen. *Cuadernos del área de Ciencias Agrarias*, 6, 27-44.

Piñeiro, J.; Castro-Insua, J.; Blázquez, R. (2009). Adubado de forraxeiras e pratenses. *Revista Cooperación Galega*, 92.

Piñeiro, J.; Díaz, N. (2005). La producción forrajera en la España húmeda. Actas de la XLV Reunión Científica de la Sociedad Española para el Estudio de los Pastos “Producciones agroganaderas: Gestión eficiente y conservación del medio natural”, 2, 425-463.

Plantureux, S.; Bernués, A.; Huguenin-Elie, O.; Hovstad, K.; Isselstein, J.; McCracken, D.; Therond, O.; Vackar, D. (2016). Ecosystem services indicators for grassland in relation to ecoclimatic regions and land use systems. *Grassland Science in Europe*, 21, 524-547.

Prandini, A.; Sigolos, S.; Piva, G. (2009). Conjugated linoleic acid (CLA) and fatty acid composition of milk, curd and Grana Padano cheese in conventional and organic farming systems. *Journal of Dairy Research*, 76, 278-282.

Pulido, R.; Hernández-García, M.; Saura-Calixto, F. (2003). Contribution of beverages to the intake of lipophilic and hydrophilic antioxidants in the Spanish diet. *European Journal of Clinical Nutrition*, 57 (10), 1275-1282.

Rautiainen, S.; Wang, L.; Lee, I.M.; Manson, J.E.; Buring, J.E.; Sesso, H.D. (2016). Dairy consumption in association with weight change and risk of becoming overweight or obese in middle-aged and older women: a prospective cohort study. *Am. J. Clin. Nutr.*, 103, 979-988.

Resch-Zafra, C.; Pereira-Crespo, S.; Flores-Calvete, G.; Dagnac, T.; González, L.; Agruñá M.J.; Fernández-Lorenzo, B.; Veiga, M. (2015). Effect of feeding system on cow milk fatty acids composition in a panel of Galician dairy farms. Proceedings of 18th European Grassland Federation Symposium on "Grassland and forages in high output dairy farming systems". *Grassland Science in Europe*, 20, 292-294.

Revista Agroeuropa (2013). Leche: el ministro de Agricultura confirma su apuesta por un régimen de regulación de la producción. *Agroeuropa*, 1238.

Rice, B.H.; Quann, E.E.; Miller, G.D. (2013). Meeting and exceeding dairy recommendations: effects of dairy consumption on nutrient intakes and risk of chronic disease. *Nutrition Reviews*, 71 (4), 209-223.

Röhrle, F.T.; Moloney, A.P.; Osorio, M.T.; Luciano, G.; Priolo, A.; Caplan, P.; Monahan, F.J. (2011). Carotenoid, colour and reflectance measurements in bovine adipose tissue to discriminate between beef from different feeding systems. *Meat Sci.*, 88, 347-353.

Samková, E.; Špička, J.; Pešek, M.; Pelikánová, T.; Hanuš, O. (2012). Animal factors affecting fatty acid composition of cow milk fat: A review. *South African Journal of Animal Science*, 42 (2), 83-100.

Santiso, J.; Sineiro, F. (2016). Libéralisation des Marchés Laitiers : une perspective depuis le secteur laitier espagnol. Colloque Société Française d'Economie Rurale “La Liberalization des marchés laitiers”.

- Santos-Silva, J.; Bessa, R.J.B.; Santos-Silva, F. (2002). Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs. II. Fatty acid composition of meat. *Livest. Prod. Sci.*, 77, 187–194.
- SAS (2014). Statistical Analysis Systmes Institute Inc. SAS User's Guide:Statistics. SAS for Windows, release 9.4, Cary, NC (USA).
- Schmitt, B. (2010). Le rapport Oméga-6/Oméga-3 dans l'équilibre alimentaire : Biochimie, métabolisme et conséquences physiopathologiques. *Nutritions & Endocrinologie*, 8, 135-142.
- Schneider, C. (2005). Review: chemistry and biology of vitamin E. *Mol. Nutr. Food Res.*, 49, 7–30.
- Schroeder, G.F.; Gagliostro, G.A.; Bargo, F.; Delahoy, J.E.; Muller, L.D. (2004). Effects of fat supplementation on milk production and composition by dairy cows on pasture: A review. *Livest. Prod Sci.*, 86, 1–18.
- Schwendel, B.H.; Wester, T.J.; Morel, P.C.H.; Tavendale, M.H.; Deadman, C.; Shadbolt, N.M.; Otter, D.E. (2015). Invited review: Organic and conventionally produced milk: An evaluation of factors influencing milk composition. *J. Dairy Science*, 98 (2), 721-746.
- Shingfield, K.J.; Chilliard, Y.; Toivonen, V.; Kairenius, P; Givens, D.I. (2008). Trans Fatty Acids and Bioactive Lipids in Ruminant Milk. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 606, 3-65.
- Shingfield, K.J.; Griinari, J.M. (2007). Role of biohydrogenation intermediates in milk fat depression. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 109, 799–816.
- Shingfield, K.J.; Reynolds, C.K.; Lupoli, B.; Toivonen, V.; Yurawecz, M.P.; Delmonte, P.; Griinari, J.M.; Grandison, A.S.; Beever, D.E. (2005). Effect of forage type and proportion of concentrate in the diet on milk fatty acid composition in cows given sunflower oil and fish oil. *Animal Science*, 80, 225–238.
- Shingfield, K.J.; Salo-Väänänen, P.; Pahkala, E.; Toivonen, V.; Jaakkola, S.; Piironen, V.; Huhtanen, P. (2005). Effect of forage conservation method, concentrate level and propylene glycol on the fatty acid composition and vitamin content of cows'milk. *Journal of Dairy Research*, 72, 349–361.
- Sineiro F. (2015). A importancia do sector lácteo na economía e sociedade galega. *A Terra*, 58, 28-30.
- Sineiro, F.; Lorenzana, R.; Vázquez, I. (2012). Situación actual y cambios previstos en la estructura y en el sistema productivo de las explotaciones de leche en Galicia. *Pastos*, 42 (1), 67-92.
- Sineiro, F.; Seoane, L.; Calcedo, V. (2016). A xestión das explotacións de leite na nova situación sen cotas. *Afriga*, 125, 112-128.

- Slots, T.; Butler, G.; Leifert, C.; Kristensen, T.; Skibsted, L.H.; Nielsen, J.H. (2009). Potentials to differentiate milk composition by different feeding strategies. *Journal of Dairy Science*, 92, 2057–2066.
- Sollemberg, L.; Cherney, D. (1995). Evaluating forage production and quality. R.F. Barnes, C.J. Nelson, D. Miller (Eds). *Forages*, Vol. II: The Science of Grassland Agriculture, Edition 5th., Iowa State University Press, Chapt. 7, 97-110.
- Sterk, A.; Johansson, B.E.; Taweel, H.Z.; Murphy, M.; van Vuuren, A.M.; Hendriks, W.H.; Dijkstra, J. (2011). Effects of forage type, forage to concentrate ratio, and crushed linseed supplementation on milk fatty acid profile in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 94 (12), 6078–6091.
- Sukhija, S.; Palmquist, D.L. (1988). Rapid Method for Determination of Total Fatty Acid Content and Composition of Feedstuffs and Feces. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 36, 1202-1206.
- Sutton, J.D. (1986). Milk composition. Principles and practise of feeding dairy cows, 203–218, NIRD, Technical Bulletin n°8.
- Thafvelin, B.; Oksanen, H.E. (1966). Vitamin E and linolenic acid content of hay as related to different drying conditions. *Journal of Dairy Science*, 49, 282–286.
- Thorning, T.K.; Bertram, H.C.; Bonjour, J.P.; de Groot, L.; Dupont, D.; Feeney, E.; Ipsen, R.; Lecerf, J.M.; Mackie, A.; McKinley, M.C.; Michalski, M.C.; Rémond, D.; Risérus, U.; Soedamah-Muthu, S.S.; Tholstrup, T.; Weaver, C.; Astrup, A.; Givens, I (2017). Whole dairy matrix or single nutrients in assessment of health effects: current evidence and knowledge gaps. *Am. J. Clin. Nutr.*, 105 (5), 1033-1045.
- Tilley, J.M.A.; Terry, R.A. (1963). A two stage technique for in vitro digestion of forage crops. *Journal of the British Grasslands Society*, 18, 104-111.
- Toledo, P.; Andren, A. (2003). Content of beta carotene in organic milk. *J. Food Agric. Environ.* 1, 122–125.
- Ueda, K.; Chabrot, J.; Doreau, M. (2002). Effect of silage and hay making on fatty acid content and composition of legumes. *Grassland Science in Europe*, 7, 98–99.
- Ulbrich, T.L.; Southgate, D.A. (1991). Coronary heart disease seven dietary factors. *Lancet*, 338, 985–992.
- Valdés-Paços, B.; López-Iglesias, E. (2008). Análise do complexo de producción agroalimentario galego a través das táboas input-output. Fundación Caixa Galicia - Centro de Investigación Económica y Financiera.
- Valenti, B.; Martin, B.; Andueza, D.; Leroux, C.; Labonne, C.; Lahalle, F.; Larroque, H.; Brunschwig, P.; Lecomte, C.; Brochard, M.; Ferlay, A. (2013). Infrared spectroscopic methods for the discrimination of cows' milk according to the feeding system, cow breed and altitude of the dairy farm. *Int. Dairy J.*, 32, 26-32.
- Valladares, J.; Flores, G.; González-Arráez, A.; Fernández-Lorenzo, B.; Castro, P.; Cardelle, M. (2005). Diseño de una sonda mecanizada para toma de muestras de silos.

- Producciones agroganaderas: Gestión eficiente y conservación del medio natural, 1, 145-152.
- Van der Honing, Y.; Steg, A.; Van Es, A.J.H. (1977). Feed evaluation for dairy cows: Tests on the system proposed in the Netherlands, *Livestock Production Science*, 4 (1), 57-67.
- Van Soest, P.J.; Robertson, J.B. (1985). Analysis of Forages and Fibrous Foods a Laboratory Manual for Animal Science. Cornell University, Ithaca, NY.
- Vázquez, I. (2013). Situación actual, dinámica y estrategias de las explotaciones con bovino en el norte de España. Tesis doctoral, Universidad de Santiago de Compostela.
- Veiga, M. (2019). Leguminosas pratense para a produción de leite de vacún en sistemas de baixo input en Galicia: Efecto sobre a produción e perfil de ácidos graxos do leite. Tesis doctoral. USC-Escola Politécnica Superior de Lugo. Outubro de 2019.
- Vermorel, M. (1989). Energy: the Feed Unit System. R. Jarrige. INRA y John Libbey Eurotext (Eds), París. Ruminant nutrition: Recommended allowances and feed tables, 23-32.
- Weinrich, R.; Kühn, S.; Zühlsdorf, A.; Spiller, A. (2014). Consumer attitudes in Germany towards different dairy housing systems and their implications for the marketing of pasture raised milk. *International Food and Agribusiness Management Review*, 17, 205-222.
- Whoriskey, P. (2017). Why your 'organic' milk may not be organic. The Washington Post, https://www.washingtonpost.com/business/economy/why-your-organic-milk-may-not-be-organic/2017/05/01/708ce5bc-ed76-11e6-9662-6eedf1627882_story.html?utm_term=.a2f1bab97582
- Willcox, J.K.; Ash, S.L.; Catignani, G.L. (2004). Antioxidants and prevention of chronic disease. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44, 275-295.
- Williams, C.M. (2000). Dietary fatty acids and human health. *Ann. Zootech.*, 49, 165-180.
- Wilson, J.R. (1981). Environmental and nutritional factors affecting herbage quality. Nutritional limits to Animal Production from Pastures: proceedings of an international symposium held at St.Lucia, Australia. Hacker, J.B. (Eds.), 111-131.
- Wlaeminck, B.; Fievez, V.; Cabrita, A.R.J.; Fonseca, A.J.M.; Dewhurst, R.J. (2006). Factors affecting odd- and branched-chain fatty acids in milk: a review. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 131, 389-417.
- World Health Organization (WHO). (2003). Diet, Nutrition and Prevention of Chronic Diseases. Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation, WHO Technical Report Series, 916.
- Wyss, U.; Collomb, M. (2010). Fatty acid composition of different grassland species. *Grassland Sci. Eur.*, 15, 631-633.